

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Efectos de la administración combinada de prasugrel y
acetilsalicilato de lisina intravenoso frente a pasagruel y
aspirina en la agregación plaquetaria en voluntarios sanos**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Agustín Carlos Martín García

Directores

Carlos Macaya Miguel
David Vivas Balcones

Madrid, 2015

POSTGRADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID



**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN COMBINADA DE
PRASUGREL Y ACETILSALICILATO DE LISINA INTRAVENOSO
FRENTE A PRASUGREL Y ASPIRINA EN LA AGREGACIÓN
PLAQUETARIA EN VOLUNTARIOS SANOS**

TESIS DOCTORAL

Agustín Carlos Martín García

Directores de tesis

Carlos Macaya Miguel

David Vivas Balcones

Madrid, 2015

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN COMBINADA DE PRASUGREL Y ACETILSALICILATO DE LISINA INTRAVENOSO FRENTE A PRASUGREL Y ASPIRINA EN LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA EN VOLUNTARIOS SANOS

Doctorando:

AGUSTÍN CARLOS MARTÍN GARCÍA, Residente de Cardiología del Hospital Universitario Clínico San Carlos, Madrid.

Directores y Tutores del proyecto:

D. CARLOS MACAYA MIGUEL, Doctor en Medicina, Catedrático de Cardiología de la Universidad Complutense de Madrid y Jefe del Servicio de Cardiología del Instituto Cardiovascular del Hospital Universitario Clínico San Carlos de Madrid.

D. DAVID VIVAS BALCONES, Doctor en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid y Médico Adjunto del Servicio de Cardiología del Instituto Cardiovascular del Hospital Universitario Clínico San Carlos de Madrid.

D. CARLOS MACAYA MIGUEL, Doctor en Medicina, Catedrático de Cardiología de la Universidad Complutense de Madrid y Jefe del Servicio de Cardiología del Instituto Cardiovascular del Hospital Universitario Clínico San Carlos de Madrid

CERTIFICA:

Que el trabajo realizado bajo su dirección por Agustín Carlos Martín García, titulado “Efectos de la administración combinada de prasugrel y acetilsalicilato de lisina intravenoso frente a prasugrel y aspirina en la agregación plaquetaria en voluntarios sanos” cumple las condiciones de rigor y originalidad científica para ser presentado como Trabajo de Tesis Doctoral.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación, a 20 de Marzo del 2015.

Fdo.: D. Carlos Macaya Miguel

D. DAVID VIVAS BALCONES, Doctor en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid y Médico Adjunto del Servicio Cardiología del Instituto Cardiovascular del Hospital Universitario Clínico San Carlos de Madrid

CERTIFICA:

Que el trabajo realizado bajo su dirección por Agustín Carlos Martín García, titulado “Efectos de la administración combinada de prasugrel y acetilsalicilato de lisina intravenoso frente a prasugrel y aspirina en la agregación plaquetaria en voluntarios sanos” cumple las condiciones de rigor y originalidad científica para ser presentado como Trabajo de Tesis Doctoral.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación, a 20 de Marzo del 2015.

Fdo.: D. David Vivas Balcones

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Una vez finalizado mi Tesis Doctoral, tengo la obligación de enfrentarme al capítulo más complicado de este trabajo, que no es otro que el de los agradecimientos. Intentaré resumir en unas breves líneas la gratitud que siento a todas las personas que han estado presentes durante esta larga y dura etapa. Sin ellas, hubiese sido del todo imposible afrontar con éxito la elaboración de este proyecto, en la que tanta ilusión he depositado.

Al Dr. Carlos Macaya Miguel y al Dr. David Vivas Balcones, directores de esta Tesis, por su ayuda y sabios consejos, por su gran generosidad al compartir sus conocimientos científicos, por su dedicación y constante apoyo, dándome la oportunidad de tener una visión más amplia del mundo de la investigación y descubrir cuánto me motiva.

A todo el Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Clínico San Carlos, médicos y enfermeras, por su unidad como equipo, por el apoyo de cada uno de sus miembros, por la ayuda y dedicación desinteresada que han mostrado para hacer realidad este trabajo.

A Esther Bernardo y Arantxa Ortega, por las numerosas horas que han empleado en ayudarme y por la enorme paciencia que han demostrado durante el tiempo que ha durado la realización de este trabajo.

A mi tío, padrino y amigo, por su incondicional apoyo y constante motivación, por su incansable mentalidad científica y por enseñarme a disfrutar del trabajo, mantener un espíritu de sacrificio y buscar la excelencia.

A mi hermana, por haberme inculcado el amor por esta especialidad y por quererme tanto.

A mis padres, por haberme enseñado que la vida es para los valientes y por sacrificar parte de sus vidas por el bien de la mía.

Al resto de mi familia y a todos mis amigos, que han sabido disculpar mis ausencias y siempre han tenido una palabra de ánimo.

Por último, me gustaría agradecer a todos los voluntarios que han accedido a participar en este trabajo, porque ellos son los auténticos protagonistas, y sin ellos no habría sido posible completar este camino.

Glosario de Términos

AA: ácido araquidónico
AAS: ácido acetilsalicílico
ADP: adenosina difosfato
AL: acetilsalicilato de lisina
AMPc: adenosina monofosfato cíclico
ARNm: ácido ribonucleico mensajero
ATP: adenosina trifosfato
COX: ciclooxigenasa
EC: enfermedad coronaria
ECG: electrocardiograma
ESC: “*European Society of Cardiology*”
FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo
FVW: factor de von Willebrand
GP: glucoproteína
IAM: infarto agudo de miocardio
IAP: inhibición de agregación plaquetaria
IC: insuficiencia cardíaca
ICP: intervencionismo coronario percutáneo
IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina
IRP: índice de reactividad plaquetaria
ISAR-ASPI: “*Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen-ASpirin and Platelet Inhibition*”
LDL: lipoproteínas de baja densidad
OMS: Organización Mundial de la Salud
PAR-1: proteasa tipo 1
PLATO: “*PLATelet inhibition and patient Outcomes*”
PPP: plasma pobre en plaquetas
PRP: plasma rico en plaquetas
RAPID: “*Rapid Activity of Platelet Inhibitor Drugs*”
SCA: síndrome coronario agudo
TRAP: “*thrombin receptor-activated peptide*”
TRITON-TIMI 38: “*TRial to assess Improvement in Therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibitiON with prasugrel-Thrombolysis In Myocardial Infarction 38*”
TXA2: tromboxano A2
VASP: “*vasodilator-stimulated phosphoprotein*”
Todas las abreviaturas presentes en las tablas figuran especificadas en el pie de las mismas.

Índice de temático:

1. INTRODUCCIÓN	14
1.1 Cardiopatía isquémica. Síndrome coronario agudo	16
1.1.1 Epidemiología	17
1.1.2 Fisiopatología	19
1.1.3 Clasificación del Síndrome Coronario Agudo	23
1.1.3.1 Síndrome Coronario Agudo Con Elevación del segmento ST (SCACEST)	24
1.1.3.2 Síndrome Coronario Agudo Sin Elevación del Segmento ST (SCASEST)	33
1.2.- Plaquetas. Adherencia, activación y agregación plaquetaria	37
Adhesión plaquetaria	38
Activación plaquetaria	39
Agregación plaquetaria	40
1.3 La terapia antiplaquetaria en el Síndrome Coronario Agudo	43
2. HIPÓTESIS DE TRABAJO	49
2.1 Hipótesis operativa	50
3. OBJETIVOS	51
3.1 Objetivo principal	52
3.2 Objetivos secundarios	52
4. MATERIAL Y MÉTODOS	54
4.1 Diseño y registro del estudio	55
4.2 Población a estudio	57
4.3 Selección y retirada de sujetos	59
4.4 Análisis de función plaquetaria	62
4.5 Seguimiento clínico	65
4.6 Procedimientos estadísticos	66
4.6.1 Tamaño muestral	66
4.6.2 Análisis estadístico	67
5. RESULTADOS	68
5.1 Características basales. Diagrama de flujo	69
5.2 Análisis de la función plaquetaria	71
6. DISCUSIÓN	78
7. LIMITACIONES	87
8. CONCLUSIONES	89
9. SUMMARY	91

10. ANEXOS	109
10.1 Anexo 1. Consentimiento informado	110
10.2 Anexo 2. Desarrollo del estudio	117
11. BIBLIOGRAFÍA	123

Índice de Figuras

Figura 1.- Tasas estandarizadas de mortalidad por enfermedad coronaria en 1950-2010 en España según sexo. Las tasas de mortalidad por enfermedad coronaria (EC) han disminuido de manera continuada durante los últimos 40 años	18
Figura 2.- Progresión de aterosclerosis.....	21
Figura 3.- Manejo del paciente con SCACEST en función del centro médico de llegada y disponibilidad de angioplastia primaria inmediata según la Sociedad Europea de Cardiología.	26
Figura 4.- Recomendaciones de las guías ESC 2014 sobre el uso de antiagregantes en pacientes sometidos a angioplastia primaria.....	30
Figura 5.- Recomendaciones de las guías ESC 2014 sobre el uso de anticoagulantes en pacientes sometidos a angioplastia primaria.....	31
Figura 6.- Esquema de la ultraestructura de la plaqueta.	38
Figura 7.- Esquema de receptores que participan en la adhesión, activación y agregación plaquetaria	42
Figura 8.- Algoritmo de tratamiento farmacológico del estudio.	56
Figura 9.- Inhibición de la agregación plaquetaria	63
Figura 10.- Diagrama de flujo del estudio.....	70
Figura 11.- Inhibición de la Agregación Plaquetaria (IAP). Plasma rico en plaquetas estimulado con ácido araquidónico (AA) 1,5 μ M.	74
Figura 12.- A: Inhibición de la Agregación Plaquetaria (IAP). Plasma rico en plaquetas estimulado con adenosindifosfato (ADP) 5 μ M. B: Inhibición de la Agregación Plaquetaria. Plasma rico en plaquetas estimulado con ADP 20 μ M. C: Inhibición de la Agregación Plaquetaria. Plasma rico en plaquetas estimulado con TRAP 25 μ M. D: Inhibición de la actividad plaquetaria expresado como Índice de Reactividad Plaquetaria (IRP).	76
Figura 13.- Respuesta individual de Inhibición de la Agregación Plaquetaria (IAP). Plasma rico en plaquetas estimulado con ácido araquidónico (AA) 1,5 μ M.....	77
Figura 14.- Flow chart	96
Figura 15.- Inhibition of Platelet Aggregation (IPA). Platelet-rich plasma stimulated with AA 1,5 μ M.....	103
Figura 16.- A: Inhibition of Platelet Aggregation (IPA). Platelet-rich plasma stimulated with ADP 5 μ M. B: Inhibition of Platelet Aggregation. Platelet-rich plasma stimulated with ADP 20 μ M. C: Inhibition of Platelet Aggregation. Platelet-rich plasma stimulated with TRAP 25 μ M. D: Inhibition of Platelet Activation expressed as Platelet reactivity index (PRI).....	104
Figura 17.- Individual subject antiplatelet response (IPA). Platelet-rich plasma stimulated with AA 1.5 μ M.	105

Índice de tablas:

Tabla 1.- Causas no ateroscleróticas de SCA	22
Tabla 2.- Contraindicaciones para el tratamiento fibrinolítico.....	27
Tabla 3.- Mortalidad intrahospitalaria y a los 6 meses en las categorías de riesgo bajo, intermedio y alto, en registros de poblaciones según la clasificación de riesgo GRACE. .	33
Tabla 4.- Algoritmo empleado para determinar la clasificación de riesgo CRUSADE de hemorragia mayor intrahospitalaria.....	34
Tabla 5.- Criterios de alto riesgo con indicación de manejo invasivo en SCASEST según ESC (2011).....	35
Tabla 6.- Criterios de inclusión de los sujetos.....	59
Tabla 7.- Criterios de exclusión de los sujetos.....	60
Tabla 8.- Criterios de retirada de los sujetos	61
Tabla 9.- Análisis de función plaquetaria según grupo asignado (I).	72
Tabla 10.- Análisis de función plaquetaria según grupo asignado (II).	73
Tabla 11.- Platelet function profiles according to treatment assigned (I).	101
Tabla 12.- Platelet function profiles according to treatment assigned (II).	102

1. INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

La cardiopatía isquémica es considerada uno de los mayores problemas de salud pública. El estudio de los diferentes aspectos de esta enfermedad es un desafío de gran interés médico, sanitario y social. En el año 2010, la Organización Mundial de la Salud (OMS) informó que las enfermedades cardiovasculares representan alrededor del 30,5 % de todas las muertes en el mundo, siendo, entre ellas, la cardiopatía isquémica la causa más común de muerte y discapacidad ¹.

En las últimas décadas, se han desarrollado nuevos fármacos que han demostrado una gran eficacia en la prevención y tratamiento de las enfermedades cardiovasculares, en particular, del síndrome coronario agudo (SCA). La incorporación de dichos fármacos a la práctica clínica ha implicado una mejoría relevante en su asistencia y un incremento de la supervivencia de los pacientes afectados.

La principal manifestación de la cardiopatía isquémica es el SCA, en el que las plaquetas desempeñan un papel fundamental en su aparición y desarrollo.

A continuación, se realiza una exposición sobre el SCA, el proceso de agregación plaquetaria y la terapia antiplaquetaria en el contexto del SCA, elementos fundamentales subyacentes en el desarrollo del presente trabajo.

1.1 Cardiopatía isquémica. Síndrome coronario agudo.

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de mortalidad en Europa y Estados Unidos. Dentro de las mismas, la enfermedad coronaria o cardiopatía isquémica, es la manifestación más prevalente ², representando aproximadamente una tercera parte de todas las muertes en sujetos por encima de los 35 años en los países desarrollados ³.

La cardiopatía isquémica puede manifestarse clínicamente como isquemia silente, muerte súbita, angina de pecho estable, insuficiencia cardiaca (IC) o SCA, siendo esta última la forma de presentación más frecuente. A su vez, el SCA engloba la angina inestable, el infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST (IAMSEST) y el infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST).

La expresión clínica más común de los SCA es el dolor torácico, que da origen a un proceso de pruebas y determinaciones diagnósticas y, consiguientemente, a la adopción de las apropiadas medidas terapéuticas.

La isquemia miocárdica es un fenómeno que se genera como resultado de la diferencia entre las necesidades de oxígeno del músculo cardíaco y el aporte insuficiente a través de los vasos coronarios, secundario casi siempre a una reducción del flujo sanguíneo arterial.

1.1.1 Epidemiología

El SCA es causa de alta morbilidad y mortalidad en los países desarrollados y origina elevados costes sanitarios.

En España, las tasas de mortalidad por cardiopatía isquémica han disminuido de manera continuada en los últimos 40 años ⁴ (figura 1), gracias a los avances en las terapias de reperfusión, mayor accesibilidad a la angioplastia primaria, nuevas terapias antitrombóticas y mayor énfasis en la prevención secundaria, a pesar de ello, el SCA continúa siendo la causa más común de muerte en varones y la segunda en mujeres. Sin embargo, fuera del medio hospitalario, no se ha observado una reducción significativa de la letalidad por enfermedad coronaria, fundamentalmente manifestada como muerte súbita, sugiriendo este hecho, la enorme necesidad de un aumento en la atención y esfuerzo hacia la mejora en la prevención primaria, especialmente, en relación con los factores de riesgo cardiovasculares modificables (tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipemia, obesidad y sedentarismo).

Por otro lado, la asistencia del SCA consume gran cantidad de recursos, se estima que sólo los costes directos a pacientes que se encontraban en el primer año tras el diagnóstico de SCA, fueron de 1.030 millones de euros al año.

En recientes estudios publicados ⁴ se estima que en España en el año 2013 el número de casos de SCA en la población y hospitalizados fue de 115.752 y 85.326, respectivamente. Además, se prevé que se producirá en los próximos 40 años un aumento significativo del número de casos, debido al envejecimiento progresivo de la población que conllevará importantes repercusiones socioeconómicas. Por esta razón, es necesario un conocimiento profundo de aquellos mecanismos implicados en el desarrollo de la cardiopatía isquémica para un diagnóstico, tratamiento y prevención adecuados.

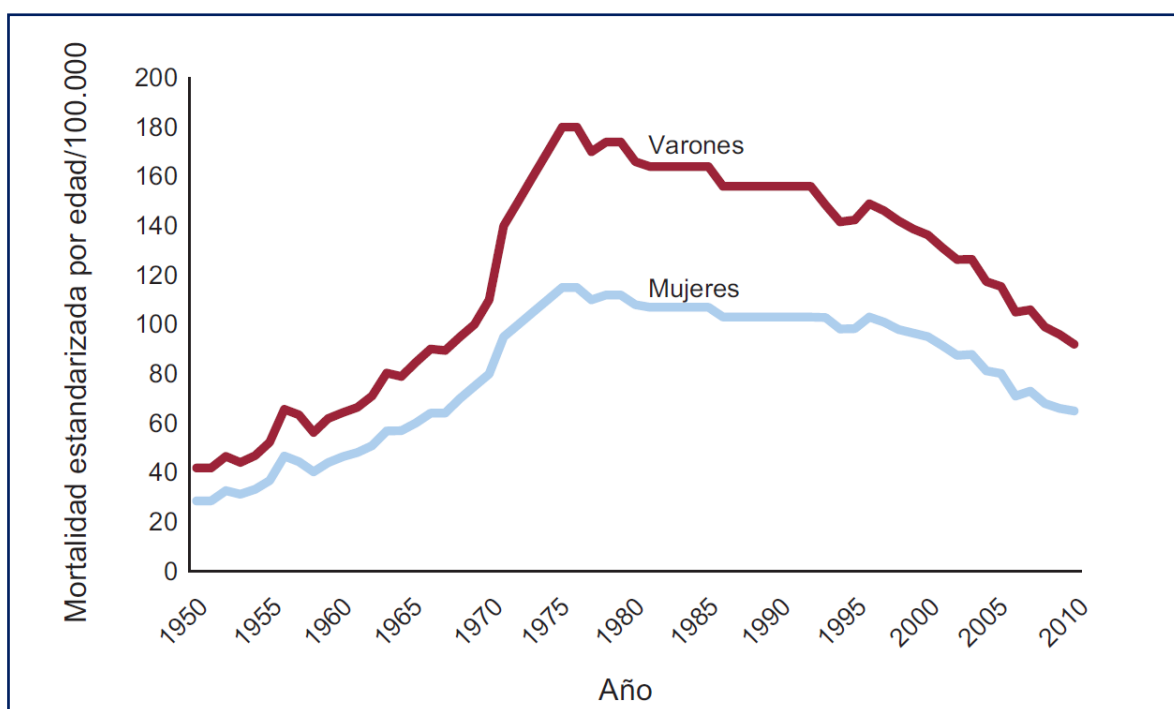


Figura 1.-Tasas estandarizadas de mortalidad por enfermedad coronaria en 1950-2010 en España según sexo ⁴. Las tasas de mortalidad por enfermedad coronaria (EC) han disminuido de manera continuada durante los últimos 40 años.

1.1.2 Fisiopatología

La gran mayoría de los SCA tienen su origen en la rotura o erosión de una placa de ateroma ⁵ que causa la formación de un trombo en la arteria coronaria, más o menos oclusivo, desencadenando una disminución súbita del flujo sanguíneo coronario a ese nivel.

La aterosclerosis es una enfermedad crónica y sistémica, que afecta a las arterias de mediano y gran calibre, que se caracteriza por el acúmulo de lípidos y el desarrollo de procesos inflamatorios y proliferativos asociados. Se trata de un proceso gradual en el que múltiples factores están implicados en su aparición y progresión, desde factores predisponentes genéticos que determinan una susceptibilidad individual hasta factores ambientales, como son hipertensión arterial, obesidad, tabaquismo, diabetes mellitus e hiperlipidemia.

Este fenómeno se inicia fundamentalmente en la capa íntima arterial (espacio subendotelial) donde se forma la lesión aterosclerótica o placa de ateroma, que estará compuesta por diferentes elementos celulares, lípidos, tejido conectivo y detritus, según la fase evolutiva de su desarrollo ⁶.

La placa de aterosclerosis tiene un precursor llamado “*estría grasa*” que se desarrolla durante las etapas precoces de la enfermedad por el acúmulo localizado de lipoproteínas de baja densidad (LDL) a nivel de la capa íntima arterial. Una vez dentro del espacio intimal extracelular, estas lipoproteínas sufren procesos de oxidación que activan las células endoteliales ⁷. A continuación, se liberan citocinas y factores de crecimiento que favorecen el infiltrado subintimal de

monocitos que se transforman en macrófagos. La captación de LDL oxidadas por los macrófagos, los convierten en células espumosas ⁸ que junto con linfocitos T que migran hacia la íntima vascular, son los componentes fundamentales de la “*estría grasa*”.

Posteriormente, el proceso avanza con la liberación de citocinas inflamatorias y factores de crecimiento, por las células endoteliales y los leucocitos, que favorecen la migración de células musculares lisas desde la túnica muscular del vaso hacia la íntima ⁹ y la producción de colágeno por parte de las mismas. Estas alteraciones favorecen la transformación de la “*estría grasa*” en una lesión fibrosa y estable.

Además se producen citocinas proinflamatorias liberadas por los macrófagos captadores de LDL oxidadas, que junto con factores de crecimiento, radicales libres y metaloproteinasas de la matriz, dan lugar a la degradación de la matriz extracelular ¹⁰, así como una mayor migración de células musculares lisas hacia la íntima, que favorece la vulnerabilidad de la placa de ateroma.

Morfológicamente, la placa de ateroma presenta un núcleo lipídico constituido por ésteres de colesterol (core lipídico), y una cubierta formada por células inflamatorias, células musculares lisas y colágeno. Según el tamaño y proporción de los componentes, la placa será más o menos vulnerable (o susceptible) a presentar fisuras o fracturas en su superficie. Aquellas lesiones ateroscleróticas con mayor contenido lipídico serán las más vulnerables, a diferencia de aquellas más estables con alto contenido fibroso ¹¹. La erosión o rotura de las placas de ateroma, con la formación de un trombo a ese nivel, puede ocluir parcial o totalmente el vaso en el que se localiza la lesión.

En resumen, durante el desarrollo de la aterosclerosis coronaria se produce un proceso lento y crónico de estrechamiento gradual de la luz de las arterias coronarias, sobre el que acontecen fenómenos de trombosis más dinámicos y agudos, que pueden causar oclusiones coronarias agudas o crecimientos acelerados de esas placas que dan lugar a los SCA (figura 2).

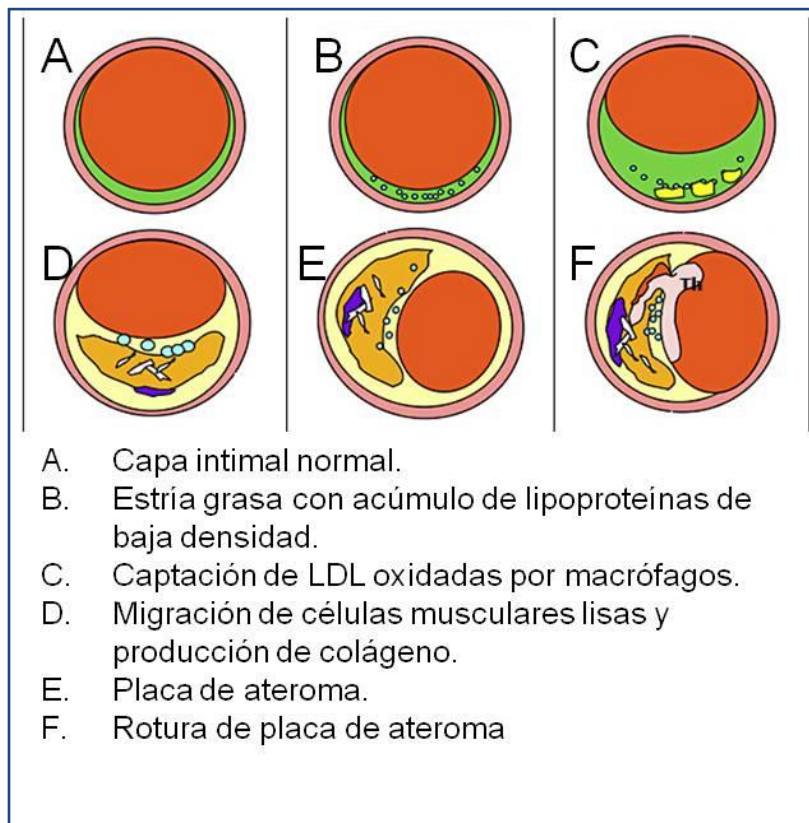


Figura 2.- Progresión de aterosclerosis (modificado de Virmani y cols. ¹²).

Aunque la aterosclerosis es la causa más frecuente de los SCA, debe considerarse que existen pacientes que sufren un SCA que no tiene una etiología aterosclerótica, como son los procesos relacionados con arteritis, disección, tromboembolismo, anomalías congénitas o consumo de tóxicos, incluso, las propias complicaciones secundarias a la realización de un cateterismo (tabla 1).

Tabla 1.- Causas no ateroscleróticas de SCA.

Anomalías congénitas coronarias	Trombosis coronaria
<ul style="list-style-type: none"> - Origen anómalo de una o más arterias coronarias. - Fístulas coronarias. - Aneurisma de la arteria coronaria. - Hipoplasia arteria coronaria. 	<ul style="list-style-type: none"> - Anticonceptivos orales. - Anemia de células falciformes. - Policitemia vera. - Coagulación intravascular diseminada. - Trombocitopenia inducida por heparina. - Mieloma múltiple.
Enfermedades coronarias no ateroscleróticas	Aumento de la demanda y/o insuficiencia aporte de oxígeno
<ul style="list-style-type: none"> - Angina vasoespástica. - Disfunción microvascular. - Disección coronaria. - Trauma coronario. - Disección aórtica. - Arteritis coronaria. 	<ul style="list-style-type: none"> - Tirotoxicosis. - Feocromocitoma. - Intoxicación por monóxido de carbono. - Metahemoglobinemia. - Hipotensión prolongada.
Embolia coronaria	Miscelánea
<ul style="list-style-type: none"> - Prótesis valvular. - Trombo intracavitario. - Tumor cardíaco. - Endocarditis infecciosa. - Endocarditis trombótica no bacteriana. - Coronariografía. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cocaína. - Contusión miocárdica. - Electrocuación miocárdica.

1.1.3 Clasificación del Síndrome Coronario Agudo

La prueba diagnóstica inicial es el electrocardiograma (ECG) y es la que va a permitir clasificar a los pacientes en dos categorías, SCA con elevación del segmento ST (SCACEST) ¹³ y SCA sin elevación del segmento ST (SCASEST) ¹⁴.

En el primer grupo, el objetivo terapéutico primario es conseguir una rápida y completa reperfusión miocárdica (“apertura del vaso ocluido”) mediante angioplastia primaria o fibrinólisis. En el grupo de SCASEST la estrategia inicial es aliviar los síntomas de isquemia y estratificar el riesgo de forma paralela aplicando diferentes escalas.

Según la base fisiopatológica, la sintomatología experimentada, las alteraciones presentes en el ECG y los resultados de las determinaciones analíticas, se diferencia entre dos categorías:

1. Pacientes con cuadros de dolor torácico agudo y elevación persistente (más de 20 minutos) del segmento ST en el ECG. Constituyen los SCACEST, causados generalmente por una oclusión coronaria completa, y que en la mayoría de los casos desarrollarán un IAMCEST. El IAM es una lesión miocárdica irreversible que empieza a desarrollarse tras 15-30 minutos de isquemia por ausencia de flujo coronario. La muerte celular progresa desde el subendocardio hasta el subepicardio, dependiendo la extensión final del infarto del espacio y del tiempo, de la localización de la oclusión, de la gravedad y duración de la isquemia y de la presencia o no de circulación colateral.

2. Pacientes con cuadros agudos pero sin elevación persistente del segmento ST. En estos casos, el ECG no muestra alteraciones o presenta cambios en la onda T o alteraciones transitorias del segmento ST. El diagnóstico inicial será de SCASEST que tras la estrecha vigilancia clínica y la determinación de marcadores de daño miocárdico como son las troponinas, pasará a considerarse como angina inestable (marcadores negativos) o IAMSEST (marcadores positivos). Están causados por trombos transitorios, trombos no oclusivos o arterias ocluidas pero con abundante circulación colateral.

1.1.3.1 Síndrome Coronario Agudo Con Elevación del segmento ST (SCACEST).

La incidencia estimada de SCACEST, en los países desarrollados, es de 60-70/100.000 habitantes/año ¹³ con una mortalidad aproximada del 7% en la fase hospitalaria ¹⁵ y en torno al 12-15% a los 6 meses, esta última en estrecha relación con el remodelado ventricular posterior al infarto.

La reperusión *farmacológica* con agentes fibrinolíticos o *mecánica* mediante intervencionismo coronario percutáneo (ICP) debe practicarse durante las primeras 12 horas tras la aparición de los síntomas. En los diferentes estudios que comparaban ambos métodos, la angioplastia primaria se asoció a mayores tasas de reperusión, menores reoclusiones y mejor función ventricular ¹⁶. El beneficio de la reperusión es mayor cuanto más precozmente pueda realizarse, siendo más manifiesto en las primeras horas. En la figura 3 se describen las distintas estrategias de reperusión y los plazos límite para cada una de ellas según la Sociedad Europea de Cardiología (ESC).

La angioplastia primaria debe realizarse cuando el paciente presenta dolor torácico o síntomas sugerentes de enfermedad coronaria, de duración superior a 20 minutos, con persistencia tras la administración de nitroglicerina sublingual o intravenosa, dentro de las primeras 12 horas del inicio de los síntomas (hasta 48 horas si persisten los síntomas) y que presenten en el ECG al menos una de las siguientes alteraciones:

- Elevación del segmento ST > 1 milímetro (mm) en ≥ 2 derivaciones de miembros (DI, DII, DIII, AVR, AVL, AVF).
- Elevación del segmento ST > 2 mm en ≥ 2 derivaciones precordiales consecutivas (V1-V6).
- Bloqueo completo de rama izquierda no conocido con elevación concordante del segmento ST de 1 o más mm, depresión del segmento ST de 1 o más mm en V1-V3 o elevación discordante del segmento ST de 5 o más mm.

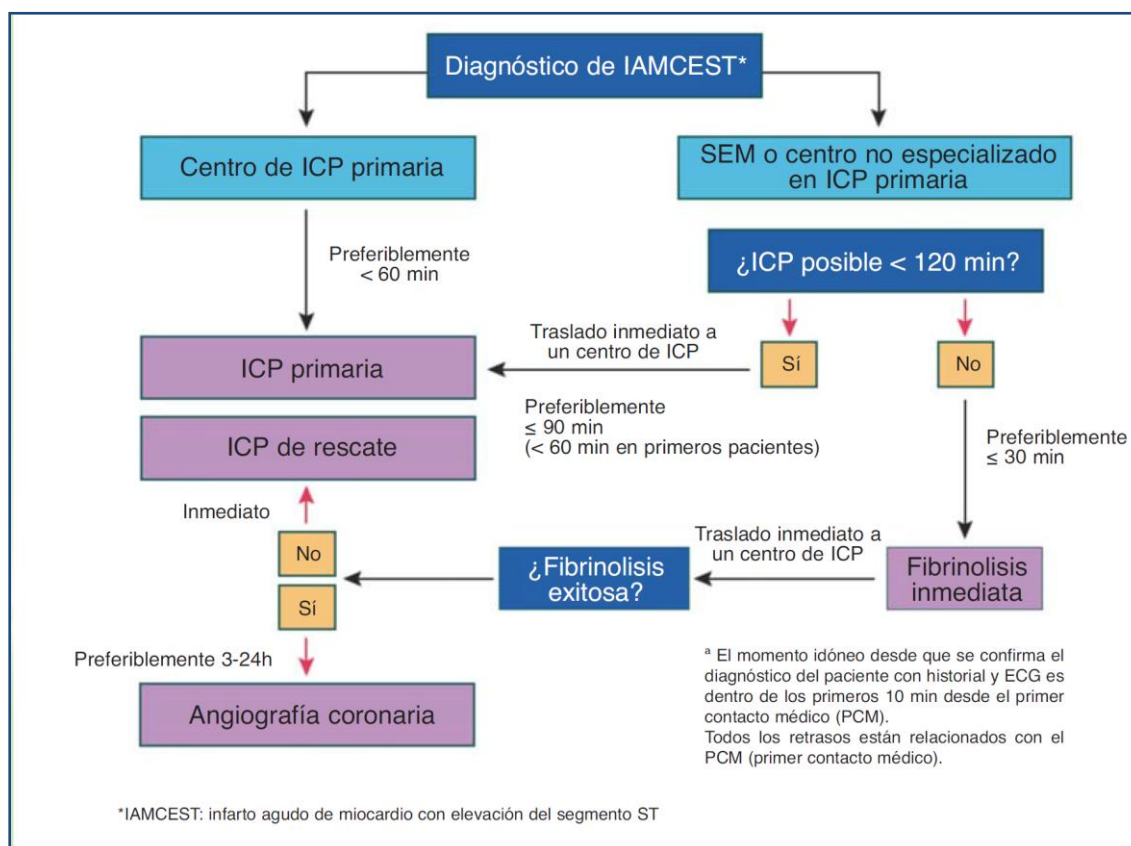


Figura 3.- Manejo del paciente con SCACEST en función del centro médico de llegada y disponibilidad de angioplastia primaria inmediata según la Sociedad Europea de Cardiología (modificado de Steg y cols. ¹³).

La fibrinólisis se recomienda en las primeras 12 horas desde el inicio de los síntomas, si no se puede realizar ICP primaria en menos de 120 minutos desde el primer contacto médico, y si no hay contraindicaciones para su uso (tabla 2). Cuanto más tarde se presente el paciente (especialmente a partir de las 6 horas desde el inicio de los síntomas) más énfasis debe hacerse en el traslado a un centro con ICP primaria, ya que la eficacia y el beneficio clínico de la fibrinólisis disminuyen con el tiempo.

Tabla 2.- Contraindicaciones para el tratamiento fibrinolítico.

Absolutas
<ul style="list-style-type: none">▪ Hemorragia intracraneal previa o accidente cerebrovascular de origen desconocido en cualquier momento.▪ Accidente cerebrovascular isquémico en los 6 meses precedentes.▪ Daño en el sistema nervioso central o neoplasias o malformación auriculoventricular.▪ Trauma/cirugía/lesión craneal importante reciente (en las 3 semanas previas).▪ Hemorragia gastrointestinal en el último mes.▪ Trastorno hemorrágico conocido (excluida la menstruación).▪ Disección aórtica.▪ Punciones no compresibles en las últimas 24h (biopsia hepática, punción lumbar, etc.).
Relativas
<ul style="list-style-type: none">▪ Accidente isquémico transitorio en los 6 meses precedentes.▪ Tratamiento anticoagulante oral.▪ Gestación o primera semana postparto.▪ Hipertensión refractaria (presión arterial sistólica >180 mmHg o presión arterial diastólica >110 mmHg).▪ Enfermedad hepática avanzada.▪ Endocarditis infecciosa.▪ Úlcera péptica activa.▪ Reanimación prolongada o traumática.

La ICP de rescate se define como la ICP realizada en una arteria coronaria que permanece ocluida a pesar del tratamiento fibrinolítico.

La ICP de rescate debe considerarse siempre que haya evidencia de fracaso de la fibrinólisis por persistencia del cuadro clínico y/o resolución insuficiente del segmento ST (menor de 50% en las derivaciones de mayor elevación) 60 minutos después del iniciar el tratamiento trombolítico, dentro de un periodo de tiempo razonable desde el inicio de los síntomas (hasta 12 horas) ¹³.

Además de la reperfusión farmacológica y/o mecánica, es necesario el establecimiento de unas medidas iniciales de tratamiento médico, ante todo paciente con SCACEST, que incluyen:

- *Oxigenoterapia*, mediante gafas nasales o mascarilla en pacientes con hipoxia (si la saturación de oxígeno es inferior al 95%), disnea o insuficiencia cardiaca aguda.

- *Nitroglicerina (NTG) sublingual*, salvo contraindicaciones. No se administrará NTG a aquellos pacientes que presenten hipotensión arterial (tensión arterial sistólica < 90 mmHg) o bradicardia severa (< 50 latidos por minuto) o ingesta de inhibidores de la fosfodiesterasa tipo 5 (PDE-5) en las 24 horas previas.

- *Morfina*. Cloruro mórfico 2-4 miligramos (mg) intravenoso (iv) lentamente, que puede repetirse cada 5-10 minutos hasta completar 20 mg.

Los pacientes que se someten a una angioplastia primaria deben recibir una combinación de doble antiagregación plaquetaria con ácido acetilsalicílico

(AAS) y un antagonista del receptor de adenosina difosfato (ADP) lo antes posible, antes de la angiografía, más un anticoagulante parenteral:

- **Tratamiento antiplaquetario en la angioplastia primaria (figura 4):**

El empleo de AAS está basado en los resultados del estudio ISIS-2 (del inglés "*Second International Study of Infarct Survival*")¹⁷. Se recomienda una dosis de carga oral de 150-300 mg o en su defecto, si no es posible la vía oral (vo), 80-150 mg por vía iv, aunque hay muy pocos datos clínicos sobre la dosis intravenosa óptima disponibles en la literatura¹³.

Se recomienda con un nivel de evidencia I el uso de inhibidores del receptor P2Y₁₂. Sólo se recomienda el uso de clopidogrel (600 mg vo de dosis de carga) cuando no sea posible utilizar uno de los dos nuevos fármacos inhibidores del receptor P2Y₁₂ (prasugrel, dosis de carga 60 mg vo y dosis de mantenimiento de 10 mg vo al día, o ticagrelor, dosis de carga de 180 mg vo y dosis de mantenimiento 90 mg vo cada 12 horas).

Sólo se recomienda el uso de inhibidores de la glicoproteína (IGP) IIb/IIIa dentro del laboratorio de hemodinámica si se evidencia abundante contenido trombótico y se asocia a mal resultado angiográfico (flujo lento o fenómeno de "no-reflow").

Recomendaciones	Clase	Nivel
Se recomienda aspirina por vía oral o iv (si no se puede deglutir)	I	B
Se recomienda un inhibidor del receptor de ADP además de la aspirina. Las opciones son:	I	A
- Prasugrel en pacientes que no han tomado clopidogrel, si no hay historia previa de accidente cerebrovascular/AIT, edad < 75 años.	I	B
- Ticagrelor.	I	B
- Clopidogrel, preferiblemente cuando el prasugrel o ticagrelor no estén disponibles o contraindicados.	I	B
Los inhibidores GP IIb/IIIa se deben considerar para el tratamiento de rescate si hay evidencia angiográfica de trombo masivo, flujo lento o no-reflow o complicación trombótica.	IIa	C

Figura 4.- Recomendaciones de las guías ESC 2014 sobre el uso de antiagregantes en pacientes sometidos a angioplastia primaria (modificado de Windecker y cols. ¹⁸).

- **Tratamiento anticoagulante en la angioplastia primaria (figura 5):**

De acuerdo con los resultados del estudio HORIZONS-AMI (del inglés “*Harmonizing Outcomes with Revascularization and Stents in Acute Myocardial Infarction*”) ¹⁹ el anticoagulante de elección en los últimos años era la bivalirudina. En este estudio, se incluyeron 3.602 pacientes comparándose el tratamiento antitrombótico de heparina no fraccionada más inhibidores de glicoproteína IIb/IIIa frente a bivalirudina, obteniéndose menor tasa de eventos isquémicos y una reducción significativa del número de sangrados en el grupo de bivalirudina. Sin embargo, estudios recientes ²⁰ han comparado bivalirudina frente a heparina no fraccionada sin la asociación sistemática con inhibidores de glicoproteína IIb/IIIa, observándose un exceso de trombosis aguda del stent en el grupo de la

bivalirudina, mientras las diferencias en el sangrado mayor son pequeñas. Como consecuencia, en la actualidad la heparina no fraccionada es el anticoagulante de elección.

La enoxaparina puede ser una alternativa, aunque en el contexto de la angioplastia primaria no es un fármaco de primera elección.

El uso de fondaparinux está contraindicado, motivado por los resultados del estudio OASIS-6 (del inglés “*Organization for the Assessment of Strategies for Ischemic Syndromes*”) ²¹, en el que el empleo de este fármaco en pacientes sometidos a ICP primario se asoció a un riesgo incrementado de trombosis del catéter.

Recomendaciones	Clase	Nivel
Se recomienda utilizar un anticoagulante en la ICP primaria	I	A
Se recomienda el uso HNF 70–100 U/kg iv en bolo de forma aislada, o bien 50–70 U/kg iv en bolo si se asocia con inhibidores de GP IIb/IIIa	I	C
Se debe considerar el uso de bivalirudina 0,75 mg/kg iv en bolo seguido de infusión 1,75 mg/kg/h hasta 4 horas tras el procedimiento.	IIa	A
Se debe considerar el empleo de enoxaparina asociado o no a inhibidores de GP IIb/IIIa.	IIa	B
No está recomendado el uso de fondaparinux en la angioplastia primaria.	III	B

Figura 5.- Recomendaciones de las guías ESC 2014 sobre el uso de anticoagulantes en pacientes sometidos a angioplastia primaria (modificado de Windecker y cols. ¹⁸).

En relación con el tratamiento médico al alta, es importante mantener la doble antiagregación al menos durante 1 año (si es posible) e iniciar fármacos antirremodelado ventricular, destacando los siguientes:

- a) Betabloqueantes, especialmente en aquellos pacientes que presentan insuficiencia cardíaca o disfunción ventricular izquierda.
- b) Inhibidores del enzima convertidora de la angiotensina (IECAs), en pacientes con disfunción ventricular izquierda, diabéticos o insuficiencia cardíaca.
- c) Antagonistas de aldosterona en pacientes con función sistólica del ventrículo izquierdo (FEVI) <40% e insuficiencia cardíaca o diabéticos, sin insuficiencia renal significativa.
- d) Estatinas, con el objetivo de alcanzar colesterol-LDL menor de 70 mg/dl.

1.1.3.2 Síndrome Coronario Agudo Sin Elevación del Segmento ST (SCASEST).

Una vez, realizado el diagnóstico de SCASEST, se debe realizar una correcta evaluación de los riesgos isquémico y hemorrágico de cada paciente, siendo el objetivo terapéutico mantener la apertura de la arteria coronaria subocluida.

Esta valoración del riesgo, se realiza a través de “scores” o escalas de riesgo trombótico y hemorrágico que sirven para tomar decisiones acerca de la estrategia a seguir con estos pacientes. La escala GRACE (del inglés “*Global Registry of Acute Coronary Events*”) ²² permite estimar el riesgo de muerte por eventos isquémicos intrahospitalarios y a los 6 meses del seguimiento (tabla 3). Si el valor obtenido es superior a 140, el paciente se considera de alto riesgo.

Tabla 3.- Mortalidad intrahospitalaria y a los 6 meses en las categorías de riesgo bajo, intermedio y alto, en registros de poblaciones según la clasificación de riesgo GRACE (modificado de Eagle y cols. ²²).

Categoría de riesgo (terciles)	Categoría de riesgo GRACE	Muerte intrahospitalaria (%)
Bajo	≤ 108	< 1
Intermedio	109-140	1-3
Alto	> 140	> 3
Categoría de riesgo (terciles)	Categoría de riesgo GRACE	Muerte después del alta hasta los 6 meses (%)
Bajo	≤ 88	< 3
Intermedio	89-118	3-8
Alto	> 118	> 8

En cuanto a las escalas de riesgo hemorrágico, se recomienda en las guías de práctica clínica, el empleo de la escala CRUSADE (del inglés “*Can Rapid risk stratification of Unstable angina patients Suppress ADverse outcomes with Early implementation*”) ²³ (tabla 4).

Tabla 4.- Algoritmo empleado para determinar la clasificación de riesgo CRUSADE de hemorragia mayor intrahospitalaria (modificado de Subherwal y cols. ²³).

Predictor	Puntuación
Hematocrito basal (%)	
< 31	9
31-33.9	7
34-36.9	3
37-39.9	2
≥ 40	0
Aclaramiento de creatinina (ml/min)	
≤15	39
>15-30	35
>30-60	28
>60-90	17
>90-120	7
>120	0
Frecuencia cardíaca (lpm)	
≤70	0
71-80	1
81-90	3
91-100	6
101-110	8
111-120	10
≥121	11
Sexo	
Varón	0
Mujer	8
Signos de insuficiencia cardíaca en el momento del contacto con el médico	
No	0
Si	7
Enfermedad vascular previa	
No	0
Si	6
Diabetes mellitus	
No	0
Si	6
Presión arterial sistólica (mmHg)	
≤90	10
91-100	8
101-120	5
121-180	1
181-200	3
≥ 201	5

La estratificación inicial de riesgo busca identificar de forma precoz el grupo de pacientes de alto riesgo que se beneficiarían de una estrategia invasiva incluyendo coronariografía y angioplastia o cirugía de revascularización coronaria si fuera preciso.

En la tabla 5, se puede observar los criterios de alto riesgo (primarios y secundarios) según las guías de la ESC para el manejo de SCASEST ¹⁴.

Tabla 5.- Criterios de alto riesgo con indicación de manejo invasivo en SCASEST según ESC (2011) (modificado de Hamm y cols. ¹⁴).

Primarios
<ul style="list-style-type: none">▪ Elevación significativa de troponinas.▪ Cambios dinámicos del ST o alteración de la onda T (sintomáticos o silentes).
Secundarios
<ul style="list-style-type: none">▪ Diabetes mellitus.▪ Insuficiencia renal.▪ Disfunción del ventrículo izquierdo (FEVI <40%).▪ Angina postinfarto.▪ Angioplastia coronaria reciente.▪ Cirugía coronaria reciente.▪ Puntuación GRACE intermedia o alta (109-140, >140).

Usando estos criterios se definen cuatro amplios grupos de enfermos:

- a) Pacientes de *bajo riesgo* (sin ningún criterio de alto riesgo) y sin recurrencia de los síntomas: no serían subsidiarios de angiografía coronaria de rutina sino de

prueba de detección de isquemia no invasiva. Si la prueba de detección de isquemia resulta anormal, se realizaría coronariografía posteriormente.

- b) Pacientes de *alto riesgo con estrategia invasiva emergente* (en menos de dos horas): pacientes que sufren angina refractaria, fallo ventricular izquierdo, arritmias ventriculares o inestabilidad hemodinámica.
- c) Pacientes de alto riesgo con estrategia invasiva precoz (en menos de 24 horas): pacientes con puntuación GRACE mayor de 140 o al menos un criterio primario de alto riesgo.
- d) Pacientes de *alto riesgo con estrategia invasiva preferente* (en menos de 72 horas): pacientes con al menos un criterio de alto riesgo (no primario) o síntomas recurrentes.

En conclusión, el diagnóstico inicial y la estratificación del riesgo son fundamentales en el manejo del pacientes con SCASEST, ya que permite definir el grupo de alto riesgo, que son subsidiarios de ser manejados de forma invasiva, de forma preferente (en menos de 72 horas), urgente (en menos de 24 horas) o emergente (en menos de 2 horas).

Además del tratamiento revascularizador percutáneo o quirúrgico en función de los hallazgos de la coronariografía, estos pacientes deben recibir tratamiento con fármacos antianginosos, antirremodelado ventricular, agentes antiplaquetarios y anticoagulantes, como aquellos pacientes con SCACEST.

1.2.- Plaquetas. Adherencia, activación y agregación plaquetaria.

Las plaquetas o trombocitos son fragmentos discoides de 1-4 micrómetros (μm) de diámetro, liberados al torrente sanguíneo desde la médula ósea, cuyos precursores son los megacariocitos ²⁴ que circulan como elementos formes de la sangre durante una vida media de 7 a 10 días.

Estos fragmentos carecen de núcleo, aunque contienen ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que le permite sintetizar proteínas, así como mitocondrias y enzimas que participan en la formación de ADP y adenosina trifosfato (ATP) ²⁵.

Las tres estructuras principales de las plaquetas son (figura 6):

* *Membrana*: contiene glicoproteínas (GP) como los complejos GP Ib/IX y GP IIb/IIIa. Presenta invaginaciones que constituyen el *sistema canalicular abierto*.

* *Contenido*:

- *Gránulos alfa (α)*: factor 4 plaquetario, β -tromboglobulina, factor V de la coagulación, factor de von Willebrand (FVW), fibrinógeno y factor de crecimiento plaquetario.

- *Gránulos delta (δ) o cuerpos densos*: ADP, ATP, calcio y serotonina.

- *Sistema tubular denso*, donde se produce el metabolismo del ácido araquidónico (AA).

* *Atmósfera periplaquetaria*: Factor 3 plaquetario (soporte fosfolipídico donde interaccionan las proteínas de la coagulación).

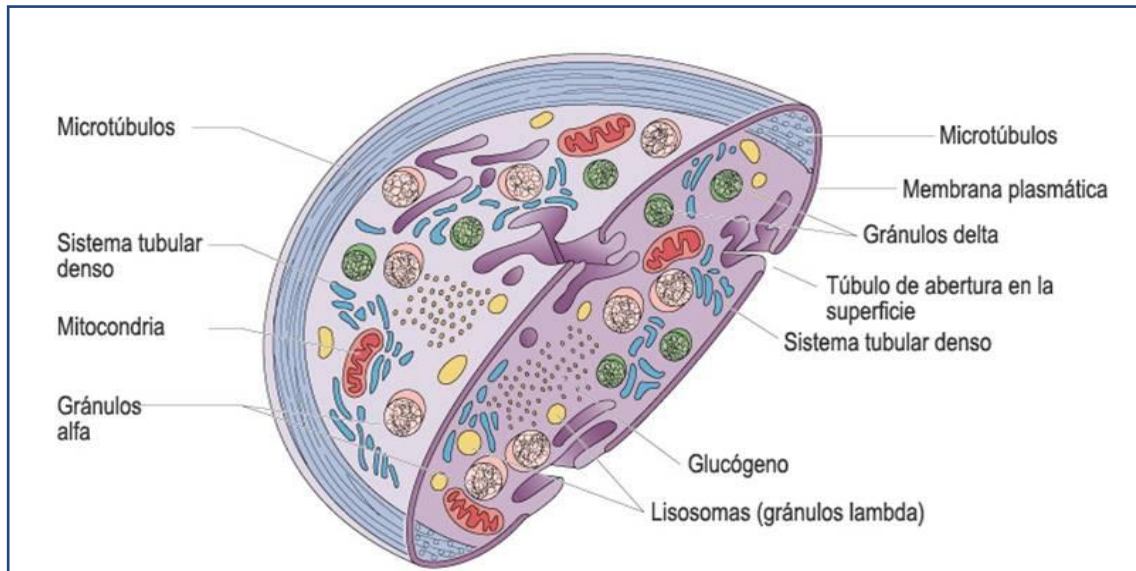


Figura 6.- Esquema de la ultraestructura de la plaqueta. Copyright © 2012 perteneciente a W.B. Saunders company.

Adhesión plaquetaria

Una vez que se produce, el daño inicial o lesión de la íntima vascular, las plaquetas reconocen los sitios de alteración vascular y se adhieren a la superficie denudada, modificando su morfología discoide adquiriendo una forma esférica. Esto conduce a la formación de una monocapa de plaquetas cuya unión con el endotelio (interacción plaqueta-pared vascular) está mediada por una proteína sintetizada por las células endoteliales presente en el plasma y en el subendotelio, llamada FVW ²⁶, y su receptor en la superficie de la membrana plaquetaria, la GP Ib, que forma parte del complejo GP Ib/IX/V.

Además la plaqueta posee en su membrana receptores de colágeno específicos ²⁷, entre ellos la GP Ia (o integrina) ²⁸ y GP VI, que permite anclar las plaquetas con rapidez a la matriz extracelular expuesta de la pared vascular lesionada. Posteriormente, se generan señales intracelulares, desde las GP Ib, GP Ia y GP VI, que conducen a la activación de las plaquetas (figura 7).

Activación plaquetaria

La activación plaquetaria es secundaria a las acciones de agonistas que se unen a los receptores de membrana en las plaquetas adheridas, movilización del calcio intracelular y transmisión de señales intracelulares ²⁹.

Estos “estímulos plaquetarios” están constituidos por mediadores humorales del plasma (adrenalina, trombina, etc.), mediadores liberados de las propias células activadas (ADP, serotonina) y constituyentes de la matriz extracelular de la pared vascular (colágeno, FVW, etc.) ³⁰.

Las plaquetas activadas experimentan una fase de liberación del contenido de los gránulos y de forma simultánea, sintetizan “*de novo*” y liberan un potente activador de las plaquetas y vasoconstrictor denominado tromboxano A2 (TXA2). El TXA2 es el principal producto de la acción de la enzima cicloxigenasa (COX) sobre el metabolismo del AA de los fosfolípidos de la membrana en las plaquetas. El TXA2 activa la bomba de calcio, estimulando con ello el sistema contráctil para la expulsión al exterior del contenido de los gránulos.

El ADP ejerce su acción fundamentalmente a través del receptor P2Y₁₂, con capacidad de reclutar más plaquetas, reducir la cantidad de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) y aumentar la actividad plaquetaria (*retroalimentación positiva*).

Finalmente, la trombina, sintetizada en el plasma tras la activación de la cascada de la coagulación, interacciona con el receptor de la trombina activado por proteasa tipo 1 (PAR-1) ³¹ en la superficie de la plaqueta, favoreciendo un aumento de calcio y la activación de la fosfolipasa C, que a su vez, desencadena la activación del receptor plaquetario GP IIb/IIIa.

Agregación plaquetaria

Los productos de la reacción de liberación de las plaquetas, entre ellos el contenido de los gránulos segregados y el TXA₂, median la fase final de la hemostasia primaria (interacción vaso lesionado-plaquetas), conocido como proceso de agregación.

Durante la agregación plaquetaria se reclutan plaquetas adicionales desde la circulación sanguínea, determinando la formación de un trombo o agregado plaquetario ³². El tapón de plaquetas es anclado y estabilizado por una malla de fibrina que se desarrolla como producto de la cascada de la coagulación ³³.

El fibrinógeno o el FVW se unen a receptores específicos de la membrana plaquetaria que están localizados en el complejo integrina GP IIb/IIIa, desencadenando la creación de “puentes interplaquetarios” ²⁹.

El complejo GP IIb/IIIa es el receptor más abundante en la superficie plaquetaria, es expresado en su forma activa por vías de transducción específicas de señal intracelular, tras la activación plaquetaria, lo que permite su unión con el fibrinógeno y el FVW. Estos receptores de GP IIb/IIIa han servido como dianas terapéuticas para la terapia antiagregante mediante el desarrollo de fármacos, intravenosos y orales, antagonistas específicos de la GP IIb/IIIa.

Después de la unión del ligando a las integrinas activadas en la superficie de las plaquetas, se inician cascadas de señales intraplaquetarias, que conducen a la extensión plaquetaria completa, agregación irreversible y retracción del coágulo, favoreciendo el crecimiento continuado y la estabilidad del tapón hemostático ³⁴.

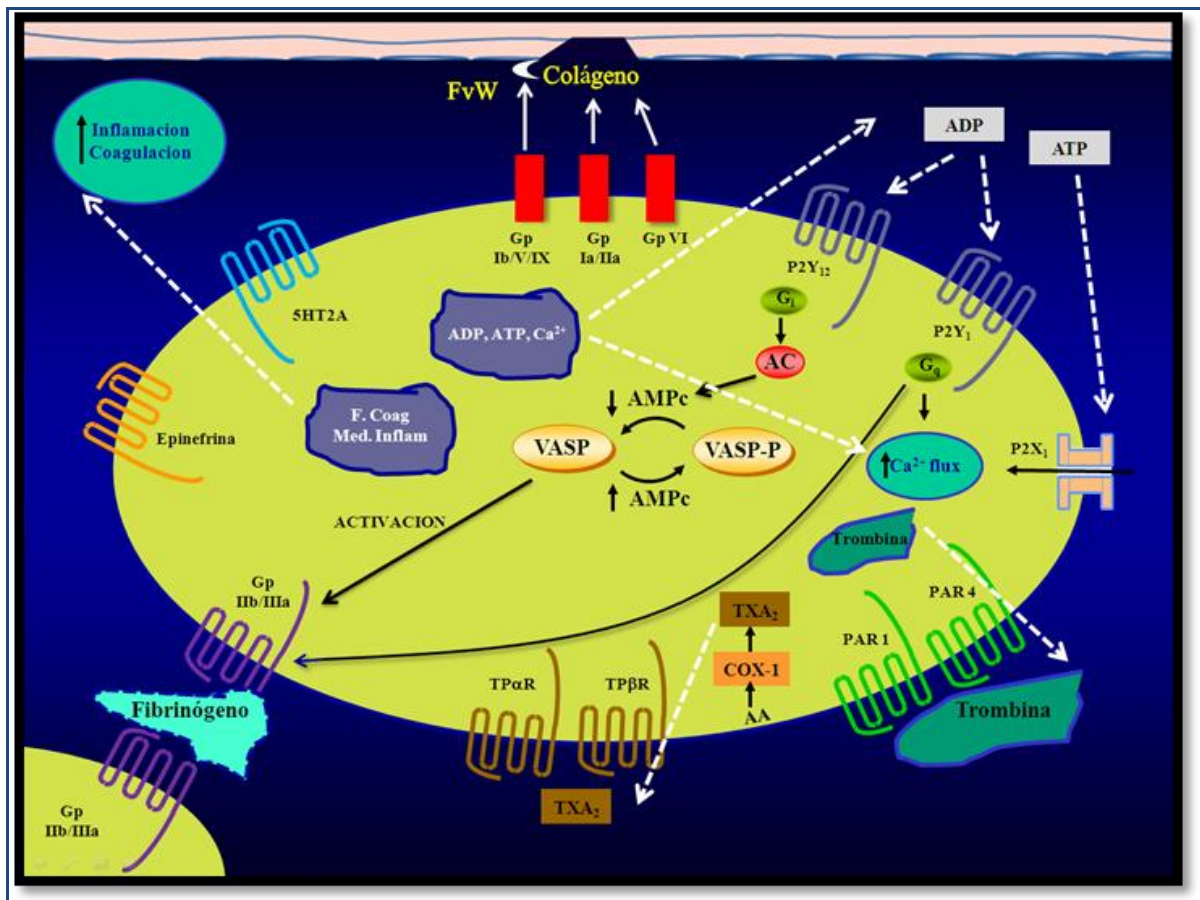


Figura 7.- Esquema de receptores que participan en la adhesión, activación y agregación plaquetaria (modificado de Vivas y cols. ³⁵).

1.3 La terapia antiplaquetaria en el Síndrome Coronario Agudo.

El papel de las plaquetas es esencial en la hemostasia primaria y en la reparación endotelial, sin embargo participan activamente en el desarrollo de los síndromes coronarios agudos y en la aparición de eventos cerebrovasculares a través de la formación y extensión de placas ateroscleróticas ³⁶.

El tratamiento de los pacientes con enfermedad coronaria requiere la combinación de fármacos antiplaquetarios y antitrombóticos para prevenir la trombosis secundaria a la activación del sistema plaquetario y de la coagulación ³⁵. El objetivo es alcanzar la máxima eficacia de tratamiento con mínimo riesgo de sangrado, evaluando de forma individualizada los riesgos isquémicos y de sangrado de los pacientes.

La terapia antiplaquetaria juega un papel fundamental en el tratamiento y prevención de eventos cardiovasculares en estos pacientes, justificando el gran desarrollo de estrategias que actúan sobre dianas específicas en las distintas fases de la trombosis plaquetaria ³⁷.

El AAS o aspirina produce una inhibición irreversible de la COX-1 reduciendo la síntesis de TXA2 ³⁸.

La combinación de aspirina e inhibidores del receptor P2Y₁₂, tienen efectos complementarios en la inhibición plaquetaria ³⁹, siendo el tratamiento antiplaquetario de elección para la prevención secundaria de eventos isquémicos en el SCA como en aquellos pacientes sometidos a ICP ¹⁸.

El clopidogrel (tienopiridina de segunda generación), es un antagonista irreversible del receptor P2Y₁₂ que inhibe la activación plaquetaria inducida por el ADP con efectos complementarios en la inhibición plaquetaria en asociación con la aspirina ^{35 40}. A pesar de la combinación de aspirina y clopidogrel, se ha demostrado la aparición de eventos isquémicos recurrentes, tanto en pacientes con SCA como en tratados con ICP, en relación con la variabilidad en el grado de inhibición del receptor P2Y₁₂ ⁴¹. Entre un 15-40 % de los pacientes tratados con clopidogrel se categorizan como pobres respondedores a la terapia doble antiagregante, mostrando, de esta forma, un alto riesgo de sufrir eventos cardiovasculares ⁴². Este dato justifica la necesidad de optimizar la inhibición plaquetaria en dichos pacientes a través de la generación de nuevos fármacos antagonistas del receptor P2Y₁₂ más potentes.

El prasugrel (tienopiridina de tercera generación) es un profármaco que necesita ser biotransformado en el hígado (al igual que el clopidogrel) en sus metabolitos activos para producir la inhibición irreversible del receptor de ADP P2Y₁₂ ⁴³. El prasugrel es más efectivo en la conversión a sus metabolitos activos, dando lugar a una mayor potencia en la inhibición plaquetaria con un inicio de acción más rápido comparado con el clopidogrel ⁴⁴.

En estudios farmacodinámicos previos, la administración de clopidogrel 600 mg en dosis única en voluntarios sanos alcanzó el máximo nivel de inhibición plaquetaria (40-50%) en un tiempo medio de 2 a 3 horas ⁴⁵. Sin embargo, la dosis de carga de 60 mg de prasugrel obtuvo una inhibición plaquetaria máxima del 60-70% entre las 2 a 4 horas desde su administración. Además, se ha demostrado que se produce una inhibición de la agregación plaquetaria significativa a los 15 minutos tras la ingesta de 60 mg de prasugrel (comparado con 1-2 horas en el caso del clopidogrel 600 mg) ⁴⁶.

Por lo tanto, se ha demostrado mayor rapidez de inicio de acción y consistencia de inhibición plaquetaria, tanto en voluntarios sanos como en pacientes con enfermedad arterial coronaria, que han sido tratados con prasugrel ⁴⁷.

Las variaciones genéticas de la enzima hepática citocromo CYP2C19 están asociadas con descenso en las concentraciones de los metabolitos activos de clopidogrel, menor inhibición de reactividad plaquetaria y estados de pobre respondedor. Sin embargo, dichos polimorfismos en esa enzima, no afectan a la farmacocinética, ni farmacodinámica del prasugrel ⁴⁸.

En relación con su metabolismo más simple, mayor rapidez de conversión en metabolitos activos y la ausencia añadida de influencia de variabilidad genética en el receptor P2Y₁₂, el prasugrel se ha convertido en una alternativa eficaz al clopidogrel ⁴⁹, siendo recientemente aprobado para la reducción de eventos cardiovasculares trombóticos en pacientes con SCA tratados con ICP.

El ticagrelor, sin embargo, deriva de una nueva clase de antiagregantes plaquetarios, las ciclopentil-triazolopirimidinas. A diferencia de las tienopiridinas, se une de manera reversible y no competitiva al receptor P2Y₁₂. El ticagrelor no es un profármaco y no requiere metabolismo hepático para su actividad, de hecho, se absorbe rápidamente tras su administración vía oral y es biológicamente activo, lo que supone, una ventaja farmacocinética importante sobre el clopidogrel.

Además, este fármaco se metaboliza mediante la enzima CYP3A, generando un metabolito activo, que a su vez, presenta una potencia antiplaquetaria similar a la de su compuesto original. Por esta razón, resulta en una rápida acción antiplaquetaria (1,5-2 horas tras su ingestión) más potente que la derivada tras la administración de clopidogrel^{50 51}.

El tratamiento con ticagrelor se debe iniciar con una dosis de carga de 180 mg vo y continuar con 90 mg cada 12 horas vo. La doble antiagregación plaquetaria con aspirina y ticagrelor, tras un IAMCEST debe prolongarse hasta 12 meses después del evento¹³.

Los más recientes avances farmacológicos relacionados con la inhibición de la agregación plaquetaria han tenido su principal objetivo en la acción sobre el receptor de ADP P2Y₁₂, no habiendo sido considerado en el mismo nivel de investigación que el anterior, el bloqueo de la enzima ciclooxigenasa. El agente limitador sobre la acción de esta última enzima más empleado es el AAS o aspirina, si bien, es conocido aunque dispensado en menor grado el acetilsalicilato de lisina (AL).

El acetilsalicilato de lisina (AL) es una sal soluble, que una vez administrada, se transforma en lisina y ácido acetilsalicílico, siendo metabolizada en el hígado en ácido salicílico (forma activa) ⁵². Además se considera que posee un gran poder antiplaquetario, a través de la reducción de la beta-tromboglobulina y el factor 4 plaquetario ⁵³, con menos efectos secundarios gastrointestinales comparado con la aspirina ⁵⁴. En un estudio previo, en pacientes con enfermedad coronaria crónica estable, el empleo de AL oral (320 mg) comparado con aspirina oral (320 mg) alcanzó una mayor eficacia y velocidad de inhibición de la agregación plaquetaria ⁵⁵.

En un estudio publicado en el año 2006, la administración combinada de AL oral con clopidogrel poseía un perfil de inhibición en términos de agregación plaquetaria similar a la asociación de aspirina y clopidogrel, al menos cuando la aspirina y el AL oral se emplean a dosis de mantenimiento de 75 y 160 mg diarios respectivamente, en voluntarios sanos ⁵⁶.

Actualmente los Servicios de Emergencias, con una frecuencia creciente emplean durante la fase aguda de los síndromes coronarios, la combinación de doble antiagregación con clopidogrel vo (300-600 mg) y AL iv (450 mg) (equivalente a 250 mg de aspirina oral) a pesar de la falta de evidencia científica de dicha asociación en la actuales guías de práctica clínica ^{13 14 57 58}.

Las guías de práctica clínica de la Sociedad Europea de Cardiología sobre el manejo de pacientes que sufren un SCA con elevación del segmento ST, recomiendan la administración de aspirina 150-300 mg vo, o bien aspirina 80-150 mg por vía iv (si no es posible la vo) con escasa evidencia de la dosis intravenosa óptima, junto a 60 mg prasugrel vo o 180 mg de ticagrelor vo (o clopidogrel 600 mg vo cuando los dos fármacos anteriores no están disponibles o están contraindicados) para obtener una inhibición plaquetaria potente y precoz, sin hacer referencia al uso de AL ¹³.

Por todo lo expuesto anteriormente, es necesario tener más datos acerca de la acción de AL sobre la reactividad plaquetaria, en comparación con aspirina. Es por ello que el trabajo a continuación presentado intenta dilucidar cuál es el efecto farmacodinámico sobre la reactividad plaquetaria de la combinación de AL intravenoso con prasugrel en sujetos sanos recibiendo dosis de carga, comparado con la inhibición plaquetaria secundaria a la asociación de prasugrel y aspirina oral.

2. *HIPÓTESIS DE TRABAJO*

2.- HIPÓTESIS DE TRABAJO

2.1 Hipótesis operativa

La coadministración de prasugrel vía oral y acetilsalicilato de lisina intravenoso en sujetos sanos, produce una inhibición de la agregación plaquetaria al menos similar a la conseguida mediante la combinación de prasugrel y aspirina vía oral, en dosis de carga.

3. *OBJETIVOS*

3.- OBJETIVOS

3.1 Objetivo principal

- Comparar la inhibición de la agregación plaquetaria (IAP) a los 30 minutos de la administración de dosis de carga de prasugrel en asociación con acetilsalicilato de lisina intravenoso frente a prasugrel más aspirina oral.

3.2 Objetivos secundarios

- Comparar la inhibición de la agregación plaquetaria (IAP) basal, a la hora, a las 4 horas y a las 24 horas de la administración de ambos grupos de tratamiento.
- Comparar la inhibición de la reactividad plaquetaria (IRP) en toda la secuencia temporal en ambos grupos de tratamiento.
- Evaluar la seguridad de los tratamientos administrados.

El objetivo de nuestro trabajo es medir y comparar la tasa inicial de IAP tras dosis de carga de acetilsalicilato de lisina intravenoso frente a aspirina oral, asociados ambos al tratamiento antiagregante con prasugrel, en voluntarios sanos. El estudio de la velocidad en el establecimiento de la inhibición plaquetaria con estos fármacos, podría ser relevante a la hora de aportar mayor beneficio clínico al reducir precozmente la formación trombótica. Hay que destacar que en estudios previos en voluntarios sanos el perfil de seguridad de estos fármacos fue óptimo y no supuso un riesgo excesivo para los mismos ⁵⁶.

Se ha establecido como objetivo principal la cuantificación de la inhibición de la agregación plaquetaria (IAP) a los 30 minutos de la administración de las drogas del ensayo. Este punto de tiempo es seleccionado porque en estudios previos sobre pacientes con angina crónica estable ⁵⁵, el pico del efecto del acetilsalicilato de lisina oral 320 mg se alcanzó a los 10 minutos tras dosis de carga, mientras que el pico de efecto de aspirina 320 mg en dosis de carga se ha obtenido cercano a los 60 minutos. Dentro de los objetivos secundarios se seleccionó el punto de tiempo de 4 horas porque el pico de efecto del prasugrel 60 mg en dosis de carga se ha obtenido cercano a las 4 horas en varios estudios previos ⁴⁶.

4. *MATERIAL Y MÉTODOS*

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Diseño y registro del estudio

Se trata de un ensayo clínico aleatorizado, unicéntrico, abierto, cruzado, con 2 periodos de tratamiento, realizado en voluntarios sanos entre Mayo del 2013 y Junio del 2014. El grupo experimental recibió una dosis única de 450 mg de acetilsalicilato de lisina intravenoso junto con 60 mg de prasugrel, mientras que en el grupo control, se administró una dosis única de 300 mg de aspirina vía oral junto con 60 mg de prasugrel.

Por tratarse de un estudio cruzado, los sujetos recibieron ambas ramas farmacológicas en dos periodos, con una separación mínima de 15 días (“periodo de lavado”) entre ellas. El algoritmo del estudio se resume en la figura 8.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Ensayos Clínicos del Hospital Clínico San Carlos de Madrid y todos los voluntarios dieron su consentimiento firmado para participar en el estudio. Este ensayo fue registrado oficialmente a través de la dirección web www.clinicaltrials.gov con el número NCT02243137, asignándole el acrónimo ECCLIPSE (*“Efectos de la administración combinada de prasugrel y acetilsalicilato de lisina intravenoso frente a prasugrel y aspirina en la agregación plaquetaria en voluntarios sanos”*).

El trabajo cumple los Principios de Buena Práctica Clínica, así como la Declaración de Helsinki ⁵⁹.

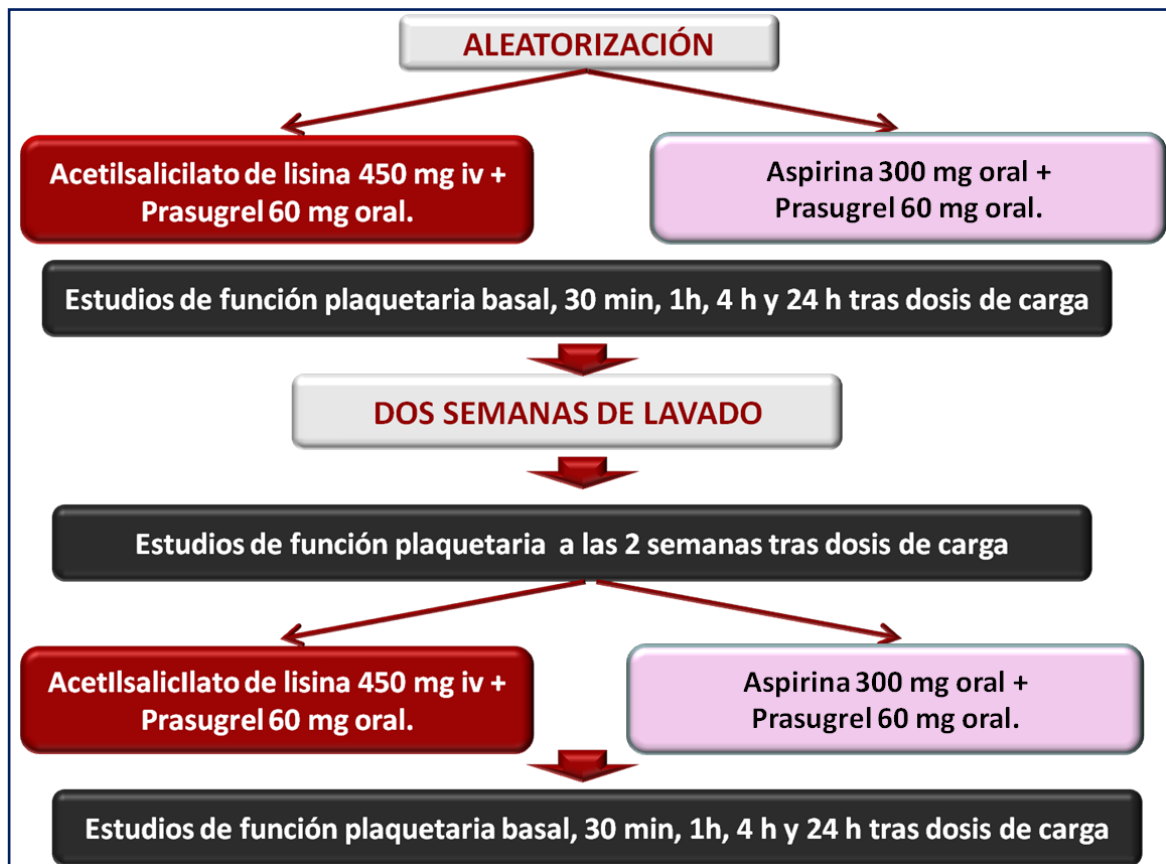


Figura 8.- Algoritmo de tratamiento farmacológico del estudio.

4.2 Población a estudio

Los sujetos fueron reclutados preferiblemente de la Universidad, así como del propio personal sanitario, y contactados a través de carteles informativos y correo electrónico.

Se concertó una cita inicial (“visita de selección”) con los mismos, en la que tuvo lugar una anamnesis y una exploración física completa, se les explicó ampliamente en qué consistía el estudio (hoja de información en anexo 1), y se realizó un análisis básico y un electrocardiograma basal, para corroborar que se cumplían los criterios de inclusión y de exclusión. A los voluntarios sanos que cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, se les facilitó el consentimiento informado del estudio para que fuera leído detenidamente y firmado en caso de querer participar.

Los voluntarios sanos que cumplían todos los criterios para participar en el estudio fueron citados para la primera visita (“visita de inclusión”), debiéndose presentar en ayunas. Fueron aleatorizados en la primera visita a través de un sistema informático para recibir tratamiento con dosis única de prasugrel 60 mg vía oral más acetilsalicilato de lisina 450 mg intravenoso (media ampolla en 10 mililitros (ml) de suero salino fisiológico al 0,9% a pasar en un minuto) o bien dosis única de prasugrel 60 mg vía oral más ácido acetilsalicílico 300 mg vía oral.

Los estudios de función plaquetaria fueron realizados en el momento basal, a los 30 minutos, a la hora y a las 4 horas, con un decalaje de un máximo de 5 minutos entre las muestras. Durante todo este tiempo, los sujetos permanecieron

en una consulta específicamente diseñada para las visitas y la realización de ensayos clínicos y se encontraron en todo momento vigilados por un médico y una enfermera. Además, esta sala se encontraba adyacente a los servicios de Urgencias y de Medicina Intensiva de nuestro centro hospitalario.

Las muestras se extrajeron por una Diplomada Universitaria en Enfermería (DUE), que extrajo cada muestra desde una vena antecubital usando una aguja de 21G (0,8 mm), con un total de 20 ml de sangre.

Tras estas 4 muestras y después de que el personal médico hubiera vuelto a examinar a los sujetos, fueron enviados a sus domicilios, insistiendo en que si aparecía la mínima alteración en su estado de salud acudieran inmediatamente a nuestro centro. Se les citó a las 24 horas de la administración de los fármacos del estudio para una última extracción (con una desviación máxima permitida de 5 minutos).

Después de dos semanas de “periodo de lavado”, los voluntarios recibieron la otra combinación farmacológica del ensayo, repitiéndose los estudios de función plaquetaria en la misma secuencia temporal que en el primer período de tratamiento (figura 8).

Se define como criterio de finalización del estudio la última visita del último sujeto incluido en el estudio.

4.3 Selección y retirada de sujetos

Fueron incorporados al estudio aquellos voluntarios sanos que cumplían los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión, tras firmar el consentimiento informado. Para reclutar a los sujetos se realizó una presentación del estudio, que fue distribuida por correo electrónico y tras su interés inicial en participar, se les informó personalmente de todos los detalles y procedimientos asociados con la realización del ensayo clínico.

Por su colaboración los voluntarios recibieron una compensación económica de 30 euros.

Tabla 6.- Criterios de inclusión de los sujetos.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN
<ul style="list-style-type: none">• Edad 18-60 años.• IMC > 19 kg/m² y < 29 kg/m².• Porcentaje de agregación plaquetaria máxima basal tras estímulo con ADP 20 µM y ácido araquidónico 1,5 µM >70%.• Valores del análisis básico y del electrocardiograma dentro de la normalidad.

Tabla 7.- Criterios de exclusión de los sujetos.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Historia de enfermedad que altere la absorción, metabolismo o eliminación de drogas, incluida la ictericia.
- Historia familiar de alteraciones hematológicas o de la coagulación.
- Historia personal de sangrados y/o discrasias sanguíneas (especialmente hemofilia o hipoprotrombinemia), incluyendo la sospecha razonable de malformaciones vasculares.
- Antecedentes de ictus o accidente isquémico transitorio.
- Prescripción de medicación crónica en los 14 días previos a la participación en el estudio.
- Participación en otro estudio que implique la administración de un producto de investigación en los últimos 4 meses o de un producto ya comercializado en los últimos 3 meses.
- Uso de aspirina, AINEs u otras drogas conocidas que afecten a la función plaquetaria en los últimos 21 días.
- Alergias medicamentosas conocidas.
- Fumadores activos.
- Uso de anticonceptivos orales.
- Mujeres embarazadas, mujeres en edad fértil que no sigan un método anticonceptivo eficaz medicamente aprobado (excluyendo tratamientos hormonales) o lactancia materna.

Tabla 8.- Criterios de retirada de los sujetos.

CRITERIOS DE RETIRADA
<ul style="list-style-type: none">○ Aparición de un acontecimiento adverso grave.○ El desarrollo de alguna condición por la que, a criterio del investigador, el sujeto deba ser retirado del estudio.○ Por voluntad del sujeto del estudio.○ Por presentar algún criterio de exclusión para su continuación en el estudio.
<p>* <i>En cualquier caso, los sujetos retirados del estudio no fueron reemplazados.</i></p>
<p>** <i>A los sujetos retirados del estudio independientemente del motivo que lo causara, que hubieran recibido alguna dosis de la medicación en investigación, se les realizó una visita de fin de estudio para el seguimiento de los aspectos relacionados con la seguridad.</i></p>

4.4 Análisis de función plaquetaria

Las muestras de sangre se extrajeron de cada sujeto incluido en el estudio desde una vena antecubital usando una aguja de 21G tras la aleatorización y en cada uno de los puntos de tiempo previamente descritos.

La agregación plaquetaria se evaluó mediante un agregómetro de transmisión de luz de 2 canales (IZASA, Chrono-Log Model 490, Chrono-Log Corp., Havertown, Pennsylvania). La sangre fue recogida en tubos con citrato sódico. Se utilizó plasma rico en plaquetas (PRP) tras centrifugación (800 rpm, 10 min). El plasma pobre en plaquetas (PPP) se obtuvo mediante una segunda centrifugación del resto de sangre (2.500 rpm, 10 min). El recuento plaquetario en el PRP se ajustó a un rango de 250.000/microlitro (μL) mediante dilución del plasma autólogo cuando el recuento plaquetario se encontraba fuera de rango. El análisis de la agregación se realizó ajustando el agregómetro con PRP como referencia de 0% de transmisión de luz (0% de agregación) y PPP como referencia del 100%, midiéndose durante 5 min el aumento en la transmisión de luz a través de la suspensión de PRP sometida a agitación constante e incubada a 37° C en presencia de un agonista plaquetario. Se utilizaron como agonistas plaquetarios ADP 5 y 20 micromoles (μM) para estudiar la vía dependiente del receptor P2Y₁₂, AA 1,5 μM para estudiar la respuesta a inhibidores de la COX-1 y TRAP (del inglés "*thrombin receptor-activated peptide*") 25 μM para estudiar la vía dependiente de trombina. Se evaluó la agregación plaquetaria en todos los puntos del estudio, como se explicó previamente.

La inhibición de la agregación plaquetaria (IAP) se definió como el porcentaje relativo de disminución en el valor de la agregación máxima obtenido entre la muestra basal y la muestra en cada uno de los puntos de tiempo:

$$IAP_t = \left[1 - \left(\frac{AP_t}{AP_0} \right) \right] \times 100\%$$

***AP_t** es la máxima agregación plaquetaria en el tiempo (t) post-dosis y **AP₀** es la agregación antes de la administración de los fármacos del estudio o nivel basal. **IAP**= inhibición de la agregación plaquetaria.*

Figura 9.- Inhibición de la agregación plaquetaria

Para valorar la activación plaquetaria se utilizó el kit comercial PLT VASP/P2Y12 (Biocytex Inc., Marseille, France). Este kit estaba diseñado para monitorizar los antagonistas específicos del receptor plaquetario de ADP (P2Y12) como el prasugrel. La proteína intracelular plaquetaria VASP (del inglés “*Vasodilator Stimulated Phosphoprotein*”) es una proteína intracelular que no está fosforilada en condiciones basales. La fosforilación del VASP está regulada por la vía del AMPc. Esta vía se activa y fosforila por la acción de la prostaglandina E1 (PGE1) y se inhibe y defosforila por el ADP a través de los receptores P2Y12. Así, la fosforilación del VASP se asocia a la inhibición del receptor P2Y12 mientras que la forma de VASP no fosforilado se asocia al estado activo del receptor P2Y12. Se recogió una muestra sanguínea con citrato trisódico (0,129 M) y una alícuota de 10 µL se incubó en tubos separados con PGE1 sola y con PGE1 más ADP.

Después de una permeabilización celular, la molécula de VASP en su forma fosforilada se marcó por inmunofluorescencia indirecta con isotiocianato de fluoresceína (FITC) sin lavado con el primer anticuerpo monoclonal específico para VASP, y además se marcó con CD61 conjugado con ficoeritrina (PE) para identificar la población de plaquetas. El análisis por citometría de flujo de dos colores, permitió comparar las dos situaciones estudiadas y evaluar, en cada uno de los tubos, la capacidad del ADP para inhibir la fosforilación del VASP. A partir de la intensidad de fluorescencia media corregida (IMFc) de cada uno de los tubos, el incubado sólo con PGE1 y el incubado con PGE1+ADP, se calculó un índice de reactividad plaquetaria (IRP ó PRI del inglés *“platelet reactivity index”*) de la muestra, según la siguiente fórmula:

$$\text{IRP} = [\text{IMFc PGE1} - \text{IMFc (PGE1+ADP)}] / \text{IMFcPGE1} * 100.$$

Las muestras se analizaron en un citómetro de flujo GALLIUS (Beckman) en todos los puntos del estudio. Se recogieron los datos de fluorescencia y light scatter de un número de eventos igual a 5.000 plaquetas, con un ratio de flujo menor de 5.000 partículas/segundo y con todos los detectores en modo logarítmico.

4.5 Seguimiento clínico

La seguridad fue evaluada a través del registro de las constantes vitales, eventos hemorrágicos y eventos cardiovasculares, incluidos muerte, infarto de miocardio e ictus. El sangrado se catalogó en función de los criterios del grupo TIMI (del inglés *“Thrombolysis In Myocardial Infarction”*): mayores (caída de los niveles de hemoglobina ≥ 5 gramos/decilitro (g/dl) ó descenso del hematocrito $\geq 15\%$, o sangrado intracraneal confirmado mediante técnica de imagen) y menores (caída de los niveles de hemoglobina entre 3-5 g/dl, o sangrado espontáneo como hematuria, hematemesis o hemoptisis) ⁶⁰.

4.6 Procedimientos estadísticos

4.6.1 Tamaño muestral

Para estimar el tamaño muestral, y de acuerdo con estudios farmacodinámicos previos ⁵⁵ donde la administración de dosis de carga de acetilsalicilato de lisina 450 mg oral en pacientes con cardiopatía crónica estable alcanzó un nivel de inhibición plaquetaria de 92,2% a los 30 minutos y la dosis de carga de 320 mg de aspirina obtuvo una inhibición plaquetaria de 65,4% en ese mismo tiempo desde su administración, según la hipótesis del estudio, para encontrar un 27% de diferencia entre los dos brazos del estudio, con un poder estadístico del 80% y un nivel de significación de 0,05, se necesitaban un total de 30 voluntarios sanos en cada rama del estudio.

Al ser un estudio cruzado, fueron necesarios un total de 30 sujetos.

4.6.2 Análisis estadístico

En la recogida tanto de los datos clínicos como de los datos de laboratorio en cada sujeto, se utilizó un cuaderno de recogida de datos, así como una base de datos en *Microsoft Excel 2007*.

El análisis se realizó utilizando el programa SPSS/PC 17 (SPSS Inc. Chicago, Illinois). Las variables continuas con distribución normal se expresaron como media \pm desviación estándar. Se comprobó la distribución normal de las variables mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables categóricas se expresaron mediante frecuencias y porcentajes. Se consideraron como significativas diferencias encontradas con una probabilidad de error menor o igual a un 5% ($p \leq 0,05$).

Todas las comparaciones estadísticas de función plaquetaria entre prasugrel más acetilsalicilato de lisina y prasugrel más aspirina, para el objetivo primario y los secundarios como variables continuas, se representaron usando un modelo lineal mixto para medidas repetidas. En dicho modelo el nivel basal de agregación plaquetaria fue considerado como covarianza, los sujetos sanos como efectos aleatorizados y la secuencia, el tratamiento, la interacción entre tratamiento-secuencia temporal fueron considerados como efectos fijos.

El análisis de los resultados obtenidos se realizó por intención de tratar en cualquier caso, en todos aquellos sujetos que recibieron al menos una dosis de los fármacos del estudio.

5. *RESULTADOS*

5.- RESULTADOS

5.1 Características basales. Diagrama de flujo

Entre Mayo del 2013 y Junio del 2014 un total de 51 sujetos fueron sometidos al “*screening*” o selección inicial (figura 10), y aquellos 30 voluntarios sanos que cumplían todos los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión, fueron aleatorizados a recibir uno de los dos grupos de tratamiento (dosis única de 450 mg de acetilsalicilato de lisina iv junto con 60 mg vo de prasugrel, o bien, una dosis única de 300 mg de aspirina vo junto con 60 mg vo de prasugrel).

De los 30 voluntarios (edad $26,1 \pm 4,9$ años, 46,6% mujeres), y después de al menos 15 días de periodo de lavado, 29 completaron el segundo periodo de tratamiento. Un sujeto que inicialmente fue asignado al grupo experimental en el primer periodo del estudio, fue inmediatamente excluido al referir el diagnóstico previo hace años de microadenoma hipofisario, en seguimiento, que en la primera entrevista no había reflejado, por lo que no recibió la segunda fase de tratamiento con aspirina oral.

No se registraron eventos cardiovasculares trombóticos. Únicamente, se produjo un hematoma superficial en uno de los voluntarios durante la fase asignada al grupo experimental.

Todos los resultados se obtuvieron mediante un análisis por intención de tratar.

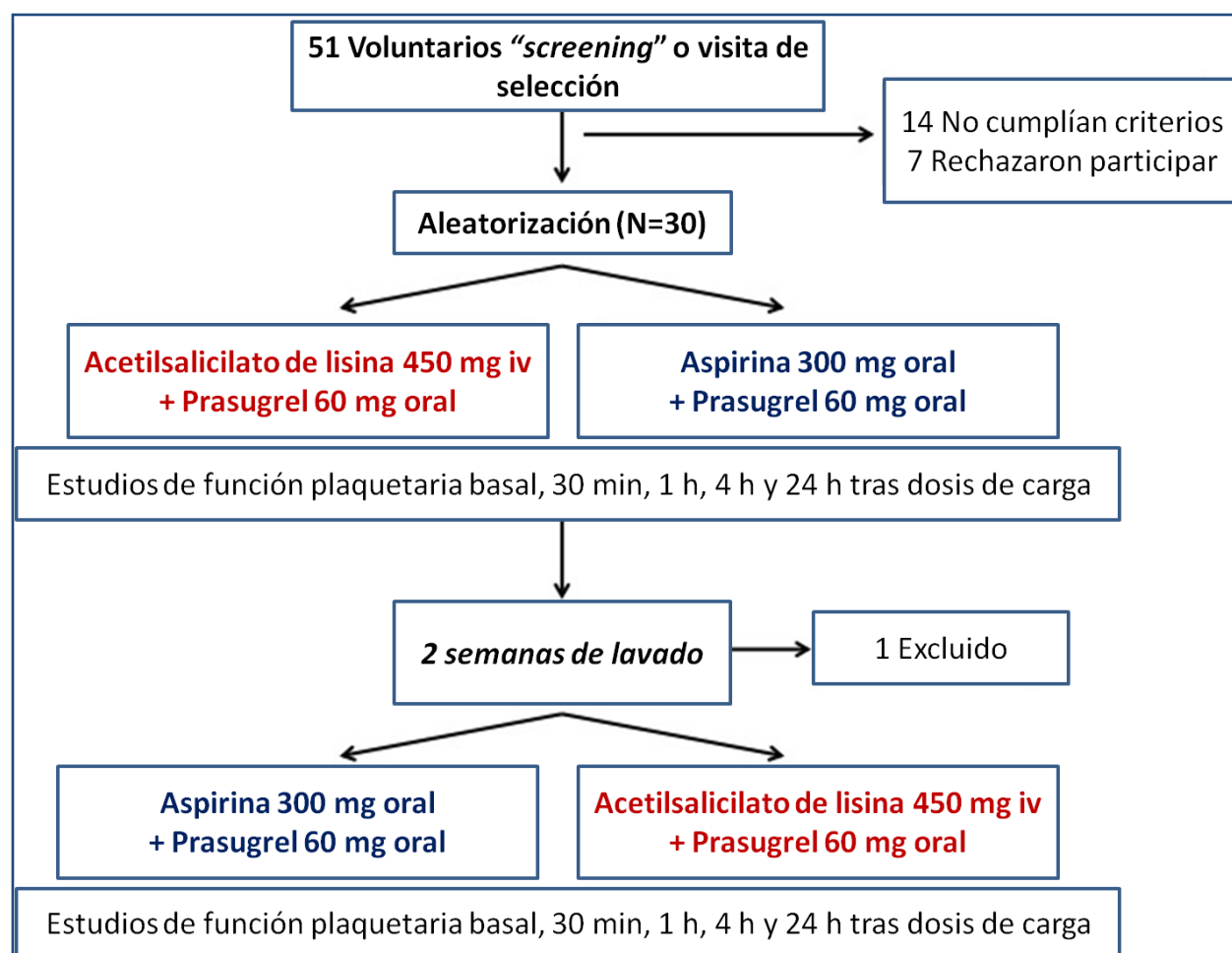


Figura 10.- Diagrama de flujo del estudio.

5.2 Análisis de la función plaquetaria

En la muestra basal, previa al inicio del grupo de tratamiento asignado, no se objetivaron diferencias significativas entre los 2 grupos en ninguno de los parámetros de función plaquetaria (tablas 9 y 10). No hubo diferencias estadísticamente significativas en relación con la secuencia, periodo o interacción secuencia de tratamiento-periodo, que sugiere la ausencia de efecto de cruzamiento ($p=NS$ [no significativa], para todos los test de función plaquetaria).

Tabla 9.- Análisis de función plaquetaria según grupo asignado (I).

	ACETILSALICILATO DE LISINA (AL) (n = 30)	ASPIRINA (n = 29)	Diferencia media-Grupo de Acetilsalicilato de lisina (IC 95%)	Valor P
AA 1.5 μM (%)				
RP Basal	80,1 \pm 9,9	82,8 \pm 12,0	- 2,7 (-8,4 a 3,1)	0,352
IAP 30 min	85,3 \pm 7,2	44,3 \pm 32,6	30,2 (11,1 a 49,3)	0,003
IAP 1 h	84,7 \pm 5,7	54,0 \pm 28,2	27,7 (10,4 a 45,1)	0,002
IAP 4 h	86,8 \pm 7,0	70,0 \pm 28,2	17,5 (0,1 a 35,0)	0,048
IAP 24 h	88,4 \pm 6,6	90,4 \pm 5,5	- 2,9 (-7,6 a 1,7)	0,209
ADP 5 μM (%)				
RP Basal	60,9 \pm 24,4	65,3 \pm 23,7	- 4,4 (-17,0 a 8,1)	0,482
IAP 30 min	76,0 \pm 22,7	70,6 \pm 28,6	- 0,1 (-20,3 a 20,1)	0,988
IAP 1 h	89,6 \pm 11,1	88,8 \pm 9,0	- 3,8 (-11,9 a 4,3)	0,347
IAP 4 h	85,7 \pm 14,9	93,8 \pm 7,6	- 7,5 (-16,9 a 1,9)	0,117
IAP 24 h	85,7 \pm 16,6	87,5 \pm 9,5	- 6,6 (-17,9 a 4,6)	0,243
ADP 20 μM (%)				
RP Basal	72,1 \pm 11,4	75,6 \pm 10,4	- 3,5 (-9,1 a 2,2)	0,236
IAP 30 min	70,0 \pm 24,6	60,6 \pm 33,6	6,9 (-16,4 a 30,2)	0,554
IAP 1 h	84,2 \pm 12,3	84,4 \pm 10,9	- 6,5 (-15,5 a 2,5)	0,153
IAP 4 h	87,2 \pm 11,8	89,7 \pm 8,6	- 4,4 (-12,2 a 3,4)	0,260
IAP 24 h	83,5 \pm 13,3	83,6 \pm 9,4	- 4,4 (-14,0 a 5,1)	0,355

Valores expresados como media \pm desviación estándar. AA: Ácido araquidónico. ADP: Adenosina Difosfato. IAP: Inhibición de la Agregación Plaquetaria. AL: Acetilsalicilato de lisina. TRAP: Péptido activador del receptor de trombina. RP: Reactividad plaquetaria.

Tabla 10.- Análisis de función plaquetaria según grupo asignado (II).

	ACETILSALICILATO DE LISINA (AL) (n = 30)	ASPIRINA (n = 29)	<i>Diferencia media-Grupo de Acetilsalicilato de lisina (IC 95%)</i>	<i>Valor P</i>
TRAP 25 μM (%)				
RP Basal	76,3 \pm 7,7	76,6 \pm 6,8	1,2 (-2,6 a 5,0)	0,526
IAP 30 min	19,5 \pm 12,6	10,0 \pm 19,1	19,1 (6,0 a 32,1)	0,005
IAP 1 h	22,0 \pm 14,9	13,6 \pm 12,4	9,7 (-1,5 a 20,9)	0,089
IAP 4 h	24,5 \pm 17,5	19,4 \pm 21,0	13,8 (-2,2 a 29,8)	0,089
IAP 24 h	24,5 \pm 15,9	21,9 \pm 21,6	0,85 (-15,5 a 17,2)	0,917
IRP (%)				
Basal	76,8 \pm 22,7	77,4 \pm 13,2	- 0,6 (-10,4 a 9,1)	0,895
30 min	15,1 \pm 18,3	15,7 \pm 21,3	7,8 (-7,1 a 22,6)	0,300
1 h	6,6 \pm 9,4	4,0 \pm 6,8	2,5 (-1,9 a 6,9)	0,265
4 h	4,9 \pm 8,5	8,4 \pm 18,0	- 1,2 (-12,0 a 9,5)	0,820
24 h	10,0 \pm 10,9	9,0 \pm 8,9	1,5 (-6,1 a 9,2)	0,690

Valores expresados como media \pm desviación estándar. AA: Ácido araquidónico. ADP: Adenosina Difosfato. IAP: Inhibición de la Agregación Plaquetaria. AL: Acetilsalicilato de lisina. TRAP: Péptido activador del receptor de trombina. RP: Reactividad plaquetaria. IRP: Índice de reactividad plaquetaria.

El objetivo primario del estudio, la inhibición de la agregación plaquetaria a los 30 minutos tras la administración de AA 1,5 μ M, fue significativamente mayor en los sujetos tratados con acetilsalicilato de lisina en comparación con aquella alcanzada en el grupo de tratamiento con aspirina: $85,3 \pm 7,2\%$ vs. $44,3 \pm 32,6\%$ respectivamente; diferencia media de 30,2 (IC 95%: 11,1-49,3, $p = 0,003$) (figura 11). Esta diferencia del efecto antiplaquetario fue observada a la hora: $84,7 \pm 5,7\%$ vs. $54,0 \pm 28,2\%$; diferencia media 27,7 (IC 95%: 10,4-45,1, $p = 0,002$); y a las 4 horas: $86,8 \pm 7,0\%$ vs. $70,0 \pm 28,2\%$; diferencia media 17,5 (IC 95%: 0,1-35,0, $p = 0,048$). Sin embargo, no hubo diferencias a las 24 horas entre ambos grupos de tratamiento: $88,4 \pm 6,6\%$ vs. $90,4 \pm 5,5\%$; diferencia media -2,9; (IC 95%: -7,6-1,7; $p = 0,209$).

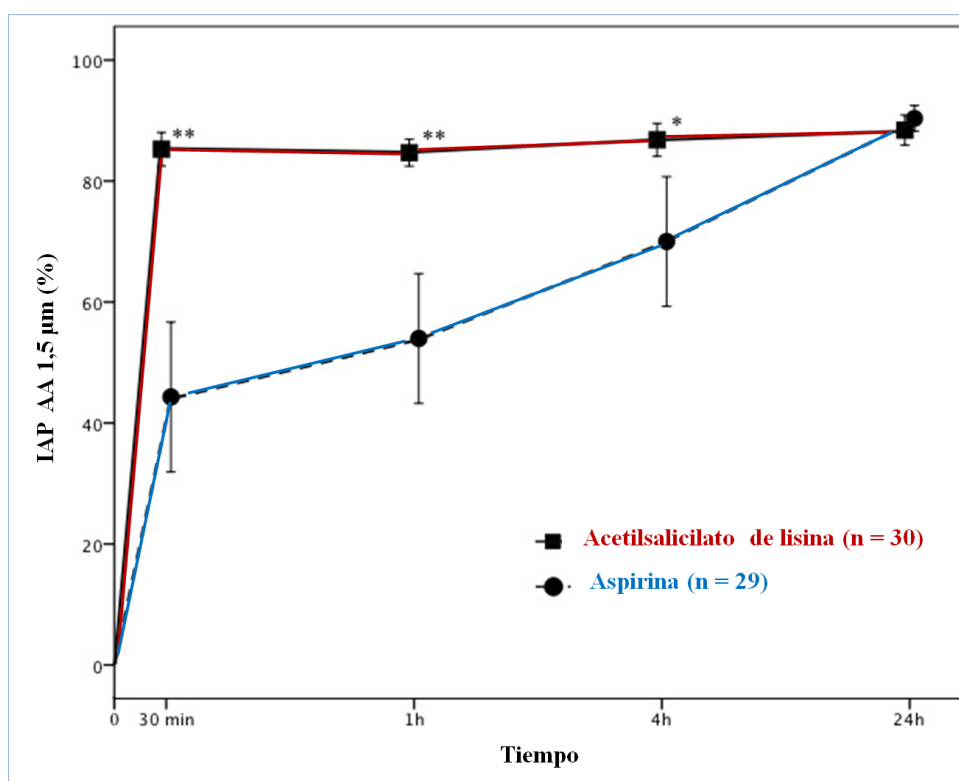


Figura 11.- Inhibición de la Agregación Plaquetaria (IAP). Plasma rico en plaquetas estimulado con ácido araquidónico (AA) 1,5 μ M.

Los resultados del análisis de la agregación plaquetaria de la vía dependiente del receptor P2Y₁₂ se muestran en las figuras 12A y 12B. No hubo diferencias entre el grupo experimental y el grupo control respecto al plasma estimulado con ADP 5 μ M y 20 μ M ($p = \text{NS}$). Estos hallazgos fueron similares cuando se estudió la activación plaquetaria a través del índice de reactividad plaquetaria (IRP) (figura 12D).

Cuando se analizó la agregación plaquetaria dependiente de la vía de la trombina con el agonista TRAP 25 μ M, los sujetos tratados con AL mostraron una reducción significativa de la función plaquetaria a los 30 minutos: $19,5 \pm 12,6\%$ vs. $10,0 \pm 19,1\%$; diferencia media 19,1 (IC 95%: 6,0-32,1, $p = 0,005$), una tendencia no significativa a la hora: $22,0 \pm 14,9\%$ vs. $13,6 \pm 12,4\%$; diferencia media 9,7 (IC 95%: -1,5-20,9, $p = 0,089$) y a las 4 horas: $24,5 \pm 17,5\%$ vs. $19,4 \pm 21,0\%$; diferencia media 13,8 (IC 95%: -2,2-29,8, $p = 0,089$), pero no a las 24 horas: $24,5 \pm 15,9\%$ vs. $21,9 \pm 21,6\%$; diferencia media 0,85 (IC 95: -15,5-17,2, $p = 0,917$) cuando se compararon con el grupo de aspirina (figura 12C).

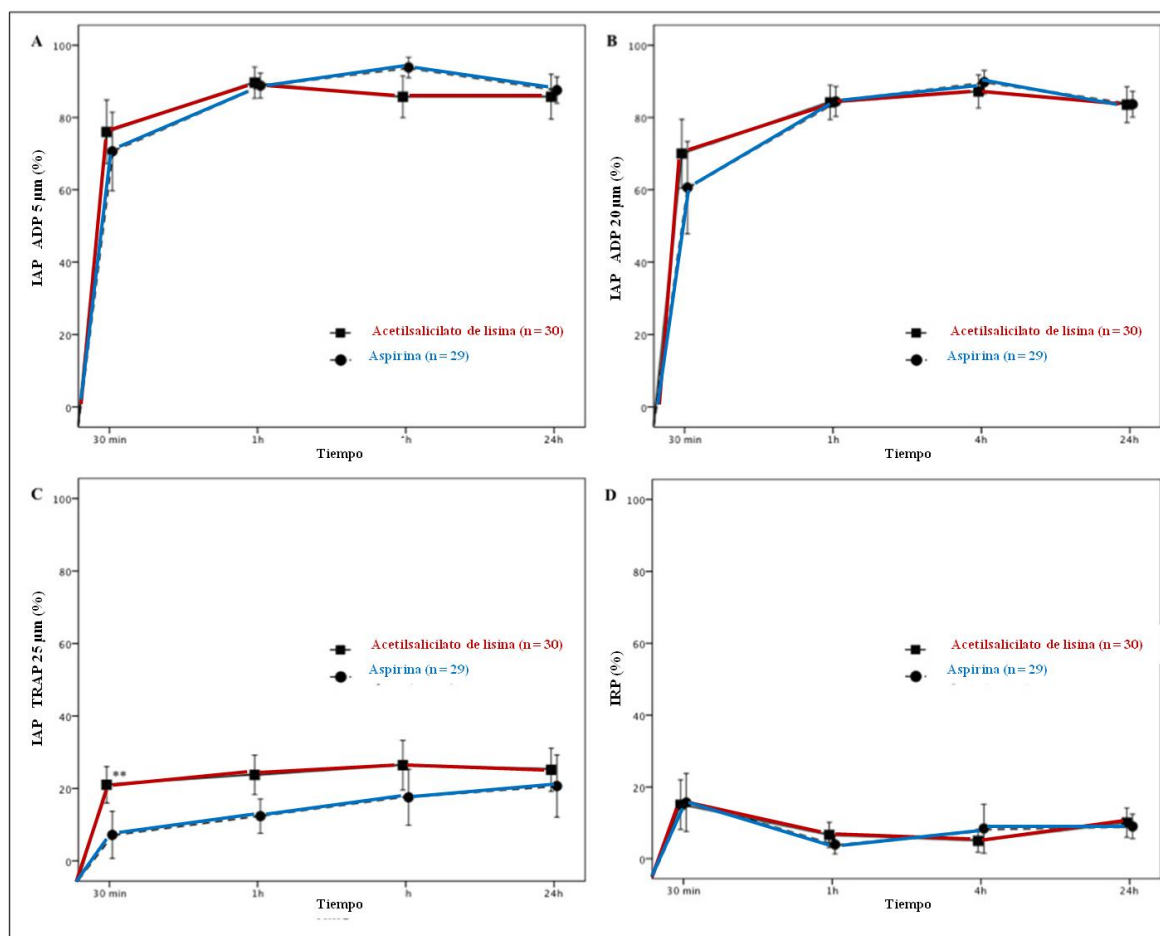


Figura 12.- A: Inhibición de la Agregación Plaquetaria (IAP). Plasma rico en plaquetas estimulado con adenosindifosfato (ADP) 5 μ M. B: Inhibición de la Agregación Plaquetaria. Plasma rico en plaquetas estimulado con ADP 20 μ M. C: Inhibición de la Agregación Plaquetaria. Plasma rico en plaquetas estimulado con TRAP 25 μ M. D: Inhibición de la actividad plaquetaria expresado como Índice de Reactividad Plaquetaria (IRP).

En la figura 13 se muestra la respuesta antiplaquetaria individual de cada uno de los sujetos en el plasma estimulado con AA 1,5 μ M de forma basal, a los 30 min, a la hora, a las 4 horas y a las 24 horas. Los sujetos sanos tratados con AL presentaron menor variabilidad y una inhibición de la función plaquetaria mayor y más rápida comparado con el grupo control (aspirina).

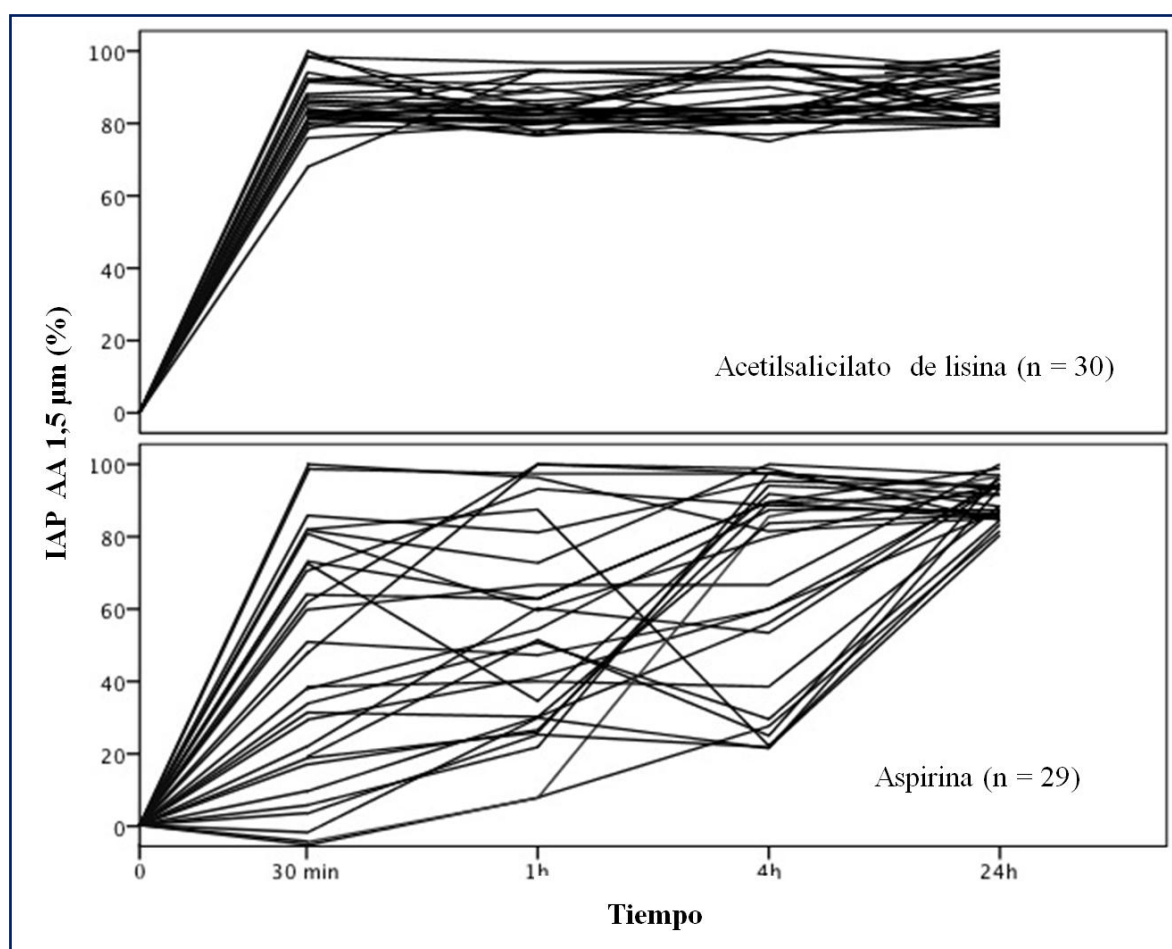


Figura 13.- Respuesta individual de Inhibición de la Agregación Plaquetaria (IAP). Plasma rico en plaquetas estimulado con ácido araquidónico (AA) 1,5 μ M.

6. ***DISCUSIÓN***

6.- DISCUSIÓN

Este estudio es el primer ensayo clínico aleatorizado que analiza el efecto farmacodinámico de la administración combinada de acetilsalicilato de lisina intravenoso más prasugrel comparado con la administración combinada de aspirina oral más prasugrel, recibiendo dosis de carga en voluntarios sanos, simulando un “escenario de SCACEST”.

Los resultados del estudio muestran como la coadministración de AL iv más prasugrel oral en sujetos sanos se asoció a una mayor inhibición plaquetaria que la aspirina más prasugrel vía oral. De hecho, la administración de AL resultó en una rápida y marcada reducción de la agregación plaquetaria a los 30 minutos comparado con aspirina oral, y estas diferencias se mantuvieron durante las primeras 4 horas tras su administración. Además, el AL obtuvo una mayor consistencia en la inhibición plaquetaria y una menor variabilidad inter e intraindividual.

En un estudio previo con pacientes con angina crónica estable ⁵⁵, el pico del efecto del acetilsalicilato de lisina oral 320 mg se alcanzó a los 10 minutos tras dosis de carga, mientras que el pico de efecto de aspirina 320 mg en dosis de carga se obtuvo cercano a los 60 minutos. Esta diferencia respecto a nuestros resultados, podría deberse a la distinta metodología empleada para la medición de la función plaquetaria, ya que tan sólo emplearon como agente agonista de la

vía de la cicloxigenasa 0,75 μ M de ácido araquidónico (AA), en lugar de 1,5 μ M en nuestro estudio.

Resulta interesante que el AL no sólo incrementó la inhibición plaquetaria cuando se evaluó la vía dependiente de la cicloxigenasa a través del AA, además se observó una reducción de la agregación plaquetaria mediada por la trombina. Este hallazgo inesperado podría sugerir un efecto del AL en el bloqueo de diferentes vías de activación plaquetaria. De hecho, un efecto añadido sobre la inhibición plaquetaria es observado cuando una estrategia antitrombótica más efectiva es empleada para alcanzar un efecto antiplaquetario más precoz ⁶¹. Sin embargo, también se podría explicar por la alta variabilidad en los valores de la medición de la función plaquetaria y las diferencias marginales en ambos grupos en sólo un punto temporal (30 minutos) ⁶².

Hace más de 30 años, se evaluó el efecto antiplaquetario de la aspirina en voluntarios sanos ⁶³. En un número elevado de estudios, se demostró gran variabilidad en los resultados de la medición de la agregación plaquetaria tras su administración ⁶⁴. En nuestro estudio, el AL presentó una menor variabilidad inter e intraindividual de forma significativa comparado con la aspirina.

En 1989, Gatti et al ⁶⁵, analizaron las propiedades farmacocinéticas del AL oral, la aspirina oral y una forma efervescente de la aspirina, en dosis comparables y en formulaciones solubles, para evitar el efecto del tiempo necesario para la desintegración y disolución de los comprimidos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el perfil de absorción, sugiriendo que podrían existir otras propiedades desconocidas en aquel momento

que explicaran la diferencia en el inicio de acción entre los fármacos a favor del AL.

Informes previos evaluaron la seguridad y eficacia de diferentes dosis de aspirina en el contexto de población con SCACEST y SCASEST ^{66 67}. Estos estudios mostraron que la administración de altas dosis de aspirina (dosis de carga y mantenimiento) incrementaba la tasa de sangrado mayor sin aportar beneficio isquémico adicional comparado con dosis bajas. En este estudio, la administración de AL más prasugrel fue bien tolerada y no se encontraron diferencias significativas de eventos adversos comparados con el grupo de aspirina y prasugrel.

La investigación actual se centra en el campo de la inhibición del receptor plaquetario de ADP P2Y₁₂. La interacción entre ADP y el receptor P2Y₁₂ desempeña un papel central en la generación del trombo rico en plaquetas en aquellas zonas de rotura y/o erosión de la placa aterosclerótica y el desarrollo posterior de eventos isquémicos en pacientes con enfermedad coronaria.

La eficacia clínica del tratamiento doble antiagregante plaquetario consistente en ácido acetilsalicílico y un bloqueador del receptor P2Y₁₂ se ha demostrado en un gran número de pacientes con enfermedad coronaria de alto riesgo ⁶⁸. Sin embargo, el tratamiento con clopidogrel, que es el bloqueador del receptor P2Y₁₂ más utilizado, se asocia a una respuesta farmacodinámica muy variable, aproximadamente uno de cada tres pacientes tratados con clopidogrel presenta alta reactividad plaquetaria durante el tratamiento (ARP) ⁶⁹. Esta

complicación tiene una clara relación con la aparición de episodios isquémicos tras la ICP en los pacientes, según grandes estudios observacionales.

En la última década se han desarrollado bloqueadores del receptor P2Y₁₂ más potentes que el clopidogrel, prasugrel y ticagrelor. Estos últimos se caracterizan por alcanzar un efecto antiplaquetario de forma más precoz, potente y predecible y obtener una mayor eficacia clínica en comparación con clopidogrel^{60 51}. Ambos son igualmente beneficiosos en los pacientes con SCA de moderado o alto riesgo, aunque por el diseño del estudio TRITON-TIMI 38 (del inglés *“TRial to assess Improvement in Therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibitiON with prasugrel-Thrombolysis In Myocardial Infarction 38”*) el prasugrel se recomienda sólo si se conoce la anatomía y la intervención coronaria está decidida, mientras que el ticagrelor, según el estudio PLATO (del inglés *“PLATelet inhibition and patient Outcomes”*), se puede administrar a todos los pacientes independientemente de la estrategia de tratamiento elegida. Por otro lado, los análisis de subgrupos muestran que el prasugrel es más beneficioso para los pacientes diabéticos⁷⁰ y está contraindicado para quienes tengan antecedentes de ictus, mientras que el ticagrelor es especialmente beneficioso para los pacientes con insuficiencia renal⁷¹ y se puede administrar a los pacientes con ictus previo⁷².

Sin embargo, estos nuevos fármacos presentan limitaciones, incluido un efecto antiplaquetario retrasado, especialmente en el contexto del SCACEST^{69 73}⁷⁴. En el estudio RAPID (del inglés *“Rapid Activity of Platelet Inhibitor Drugs”*)⁷⁴ con 50 pacientes con IAMCEST sometidos a ACTP primaria y en tratamiento con bivalirudina en monoterapia, se les asignó aleatoriamente a un tratamiento con

dosis de carga de 60 mg de prasugrel o con dosis de carga de 180 mg de ticagrelor. Tanto el tratamiento con prasugrel como con ticagrelor resultaron eficaces para inhibir la reactividad plaquetaria en solo ~50% de los pacientes a las 2 horas, siendo necesarias como mínimo 4 horas para alcanzar una inhibición plaquetaria efectiva en el 80% de los pacientes. Tiene interés señalar que el uso de morfina se asoció a un retraso en la actividad de ambos fármacos. De forma interesante, en un estudio posterior a 24 voluntarios sanos se les asignó aleatoriamente a recibir placebo o 5 mg de morfina intravenosa además de 600 mg de clopidogrel ⁷⁵. Los autores demostraron que el uso de morfina se asoció a retraso en la absorción de clopidogrel más reducción de la cantidad de metabolito activo, que se acompañó de retraso en la inhibición plaquetaria máxima (de hasta 4 horas).

En este trabajo, la administración de AL alcanza una inhibición de la agregación plaquetaria mayor del 82% a los 30 minutos tras la dosis de carga, mientras la aspirina sólo logra el 44%. Además, la aspirina sólo alcanza una inhibición de la agregación plaquetaria mayor del 70% a las 4 horas. Estos hallazgos podrían tener repercusiones clínicas, dado que recientemente se han publicado estudios que han mostrado que una reactividad plaquetaria alta al tratamiento con aspirina se asocia con un riesgo elevado de eventos cardiovasculares ⁷⁶. El objetivo de un registro denominado ISAR-ASPI (del inglés *“Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen-ASpirin and Platelet Inhibition”*) fue evaluar si una alta reactividad plaquetaria bajo tratamiento con aspirina podría influir en el pronóstico de los pacientes que reciben angioplastia coronaria. Entre febrero 2007 y mayo 2013 se incluyeron 7.090 pacientes

consecutivos que recibieron angioplastia coronaria y se les realizó medición de la reactividad plaquetaria bajo tratamiento con aspirina intravenosa antes del procedimiento. La función plaquetaria se midió con el analizador “*Multiplate*”, considerándose el objetivo primario, muerte y trombosis del stent al año. El quintil superior (n=1.414) de acuerdo a las mediciones fue definido como la cohorte con resistencia a la aspirina. Comparado con los pacientes sin resistencia (n=5.676), aquellos con resistencia a la aspirina mostraron un riesgo significativamente mayor de muerte o trombosis del stent al año (6,2% vs. 3,7% respectivamente; OR 1,78 IC 95%: 1,39 a 2,27; $p < 0,0001$). Por lo tanto, los investigadores concluyeron afirmando que la resistencia a la aspirina confirmada en el momento de la angioplastia está asociada con un mayor riesgo de muerte y trombosis intrastent dentro del primer año.

Las potenciales opciones de tratamiento durante la fase aguda en pacientes con alta reactividad plaquetaria con aspirina que son sometidos a ICP, incluyen el uso de aspirina intravenosa e inhibidores de la GP IIb/IIIa. Sin embargo, el uso de aspirina iv entre pacientes con alta reactividad plaquetaria a la aspirina, pretratados con aspirina oral, no mostró estar asociado con algún beneficio clínico ⁷⁷. Además, en otro estudio, a pesar del beneficio en la fase aguda, el uso de tirofiban (inhibidor de la GP IIb/IIIa) no se tradujo en beneficio a largo plazo entre los pacientes pobres respondedores a la aspirina ⁷⁸.

Por otra parte, una más rápida y marcada inhibición plaquetaria con ticagrelor, en pacientes prehospitales con SCACEST, se ha asociado con una reducción significativa en la trombosis de stent ⁷⁹. El estudio ATLANTIC se trata de un ensayo clínico que incluyó a más de 1.800 pacientes con un SCACEST de menos de 6 horas de evolución, comparando la administración prehospitalaria de ticagrelor con la estándar a su llegada al centro hospitalario. Las variables de eficacia del estudio se definieron como el porcentaje de pacientes que no presentaron resolución de al menos el 70% de la elevación del segmento ST antes de la angioplastia y la tasa de pacientes que no alcanzaron buen flujo coronario (TIMI 3) en el momento del cateterismo en la arteria responsable del infarto. La diferencia media de tiempo entre ambas estrategias fue de 31 minutos. No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en los objetivos primarios previamente definidos entre ambas estrategias, sin embargo el grupo de tratamiento prehospitalario presentó una menor tasa de trombosis del stent a 30 días (0,2% vs. 1,2%).

En relación con el cangrelor, un inhibidor del receptor de ADP P2Y₁₂ con un rápido inicio de acción, a pesar de que alcanza una inhibición más rápida y de mayor grado que el clopidogrel con lo que podría reducir los eventos clínicos, su rápida desaparición de acción requiere una apropiada estrategia de transición para mantener la inhibición plaquetaria ^{80 81 82}. Además, no ha sido comparado con el tratamiento estándar, prasugrel o ticagrelor, en ensayos clínicos. En este estudio, y a diferencia del cangrelor, el AL alcanza una inhibición plaquetaria más consistente comparada con la aspirina, que se mantuvo al menos hasta las 24 horas tras la dosis de carga.

Como ya se describió previamente, pese a la falta de evidencia científica de la asociación de clopidogrel oral (300-600 mg) y acetilsalicilato de lisina intravenoso (450 mg) en las actuales guías de práctica clínica^{13 14 57 58}, en nuestro medio, es empleada frecuentemente por los Servicios de Emergencias en el contexto de los SCA. La mayor inhibición plaquetaria tras la administración de AL respecto a la aspirina, podría ser relevante a la hora de aportar mayor beneficio clínico al reducir precozmente la trombogénesis, disminuyendo la duración y grado de la isquemia miocárdica (*“el tiempo es músculo”*), sin embargo se necesitarán estudios futuros en pacientes, diseñados específicamente para responder a esta pregunta.

7. *LIMITACIONES*

7.- LIMITACIONES

Este estudio presenta algunas limitaciones. En primer lugar, se trata de un ensayo clínico en fase I con voluntarios sanos, y esto daría lugar a una limitación en la generalización de los resultados a la población de pacientes con cardiopatía isquémica.

Por otro lado, la relación entre las implicaciones clínicas, y la velocidad de inicio de acción junto con la magnitud de la inhibición plaquetaria con AL es desconocida.

Finalmente, el presente estudio no fue diseñado para evaluar las dosis de mantenimiento. A pesar de ello, el diseño del protocolo y el análisis estadístico refuerzan el valor de los resultados obtenidos, que sugieren un beneficio farmacodinámico del AL comparado con aspirina.

8. CONCLUSIONES

8.- CONCLUSIONES

1. La administración de acetilsalicilato de lisina intravenoso más prasugrel oral en voluntarios sanos produce una inhibición de la agregación plaquetaria a los 30 minutos mayor que la administración de prasugrel más aspirina oral.
2. Esta reducción de la reactividad plaquetaria producida por la administración de acetilsalicilato de lisina intravenoso más prasugrel oral en voluntarios sanos resulta más rápida y con menor variabilidad inter e intraindividual comparada con la administración oral de prasugrel más aspirina.
3. Las diferencias en la inhibición de la agregación plaquetaria encontradas tras la administración de acetilsalicilato de lisina intravenoso más prasugrel oral en comparación con la administración de prasugrel y aspirina oral fueron observadas tras el estímulo con ácido araquidónico a los 30 minutos ,1 hora y 4 horas del inicio del estudio, así como en la agregación plaquetaria mediada por trombina a los 30 minutos.
4. La coadministración de acetilsalicilato de lisina intravenoso más prasugrel oral en comparación con la asociación de aspirina y prasugrel oral en voluntarios sanos resulta segura.
5. Dada la importancia de alcanzar una rápida y potente reducción de la reactividad plaquetaria en pacientes con un síndrome coronario agudo, los resultados de nuestro estudio podrían ser relevantes a la hora de aportar mayor beneficio clínico en pacientes que sufren un infarto agudo de miocardio.

9. ***SUMMARY***

10.- SUMMARY

BACKGROUND

Worldwide, coronary artery disease (CAD) is the single most frequent cause of death. Over seven million people every year die from CAD, accounting for 12.8% of all deaths.

Several recent studies have highlighted a fall in acute and long-term mortality following STEMI (ST-segment elevation acute myocardial infarction), in parallel with greater use of reperfusion therapy, primary percutaneous coronary intervention (primary PCI), modern antithrombotic therapy and secondary prevention treatments. Still, mortality remains substantial with approximately 15% of patients dead within 6 months

Platelets play a key role in patients with an Acute Coronary Syndrome (ACS), particularly in the early phases of the disease. Activated platelets release thromboxane A_2 (TXA₂), adenosine diphosphate (ADP), adenosine triphosphate (ATP) and thrombin, stimulating platelet activation and aggregation processes. Antiplatelet therapy is the cornerstone of treatment for patients with coronary artery disease. Currently, the combination of aspirin, an irreversible inhibitor of cyclooxygenase (COX) that leads to produce TXA₂, and a P2Y₁₂-ADP receptor inhibitor is the antiplatelet treatment of choice in patients with an STEMI.

The aim is to achieve maximum effectiveness of treatment with minimal risk of bleeding, individually assessing ischemic and bleeding risks for patients.

Although clopidogrel, a P2Y₁₂-ADP receptor antagonist, is worldwide used it has some limitations, such as high inter- and intraindividual variability, or slow onset of action despite loading dose, and it has been related with an increase of cardiovascular events. Thus, it has been overcome with new ADP-antagonists, like prasugrel or ticagrelor. However, evidence is lack about achieving faster and stronger cyclooxygenase (COX) inhibition. In fact, current guidelines of management of STEMI only recommend loading dose of oral enteric-coated aspirin (150-300 mg) and only intravenous use if oral ingestion is not possible

Lysine acetylsalicylate (LA) is a soluble salt that, shortly after being administered, is converted into acetylsalicylic acid, which is metabolized in the liver to salicylic acid (active form). LA presents potent antiplatelet compound with fewer gastrointestinal adverse effects than aspirin, and has the unique property of being able to be administered both orally and intravenous. Some studies have compared aspirin with LA in both, healthy volunteers and patients with stable coronary artery disease, and showed similar or higher effectiveness on platelet inhibition with LA. These works assessed oral administration of LA, but there are not studies evaluating the effects of intravenous LA administration, that could lead to achieve a faster and higher platelet inhibition than oral dosage. This fact is especially important in the setting of STEMI patients, where early platelet inhibition is associated with a reduction in cardiovascular events.

STUDY AIM AND ENDPOINTS

The present study aims to analyze in healthy volunteers the effects of combined administration of intravenous LA plus prasugrel versus aspirin plus prasugrel on platelet aggregation simulating an “STEMI scenario”, and to assess whether the administration of these different drug regimens affect the time to onset of platelet inhibition.

Operative hypothesis

Co administration of loading dose of prasugrel orally and intravenous lysine acetylsalicylate in healthy subjects produces an inhibition of platelet aggregation at least similar to that achieved after a loading dose of prasugrel and aspirin.

Primary endpoint

To compare the inhibition of platelet aggregation (IPA) at 30 minutes after administration of prasugrel loading dose in association with intravenous lysine acetylsalicylate versus prasugrel plus aspirin.

Secondary endpoints

To compare the inhibition of platelet aggregation (IPA) at 0 (baseline), 1, 4 and 24 hours after the administration of both treatment groups.

To compare the inhibition of platelet reactivity (IRP) throughout the time period in both treatment groups.

To evaluate the safety of the treatment administered.

METHODS

Study design

This trial was a prospective, randomized, single-center, open, two-period crossover platelet function study conducted between 2013 and 2014. Subjects included were healthy volunteers recruited from university students and healthcare professionals. To be enrolled, subjects fulfilled all inclusion criteria: age between 18-60 years, body mass index between 19-29 kg/m², and normal platelet function (defined as maximal platelet aggregation after stimuli with 20 µM ADP and 1.5 µM arachidonic acid > 70%). Active smokers, pregnant or childbearing women, subjects with known drug allergies, personal or familial history of bleeding, or any relevant medical condition, using any medication within 14 days prior to study participation or taking aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) or other drugs known to affect platelet function in the last 21 days were excluded.

Subjects who met all criteria for enrollment were randomly assigned to receive a loading dose (LD) of LA (450 mg intravenous) plus prasugrel (60 mg orally), or LD of aspirin (300 mg orally) plus prasugrel (60 mg orally). The medication was administered after fasting (at least 10 hours). Platelet function studies were performed at baseline, 30 minutes, 1, 4, and 24 hours after LD, with an offset of up to 5 minutes between samples. After 2-week washout period, the same procedures were performed while taking the other treatment combination under research. The algorithm is summarized in figure 1.

This protocol was approved by the local Ethics Review Committee, and complied with the Declaration of Helsinki. All subjects gave their written informed consent before undergoing any study procedure or receiving any study treatment.

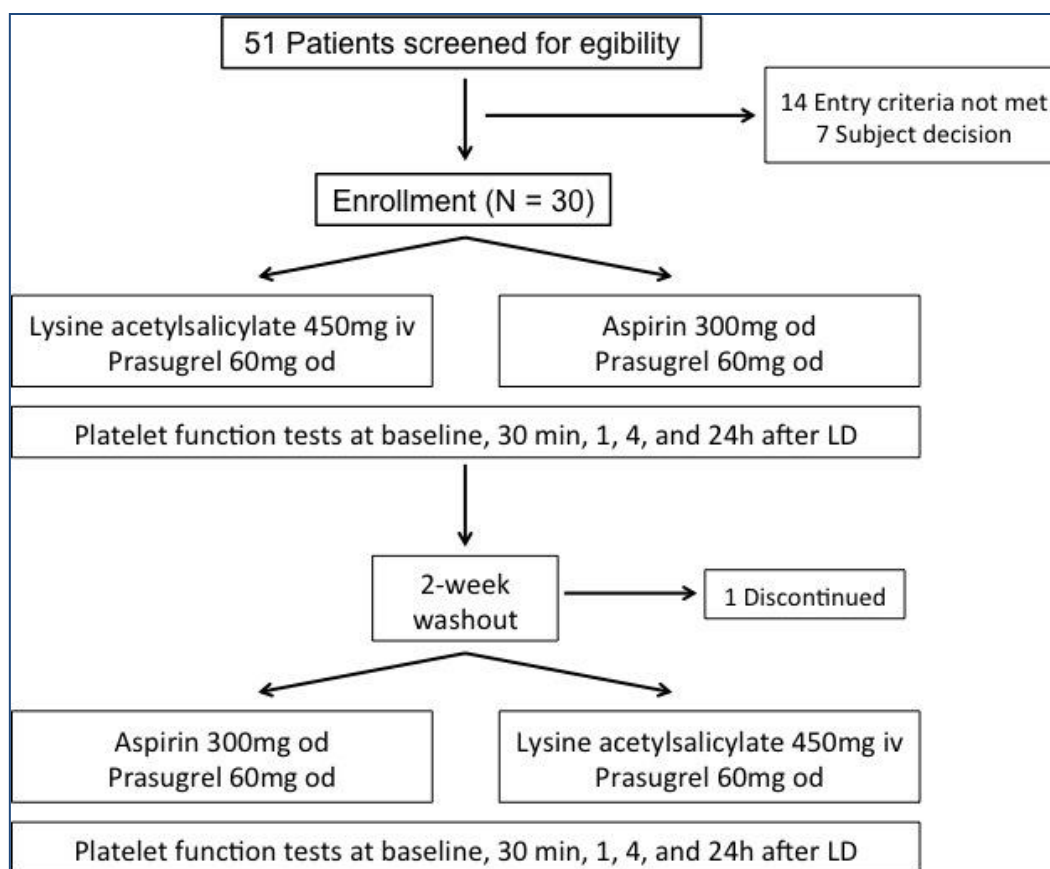


Figure 14.- Flow chart

Platelet function testing

Blood samples were collected from an antecubital vein using a 21-gauge needle after randomization and each of the previously specified set time points. First 3 ml of blood were discharged to avoid spontaneous platelet activation. All samples were processed within 1 hour by researches that were blinded to the treatment assigned.

Platelet aggregation: Platelet aggregation was assessed using light transmittance aggregometry (LTA) as previously described. In brief, LTA was performed in platelet-rich plasma by the turbidimetric method in a four-channel aggregometer (Chrono-Log 490 Model, Chrono-Log Corp., Havertown, Pennsylvania) according to standard protocols. The platelet-rich plasma (PRP) was obtained as a supernatant after centrifugation of citrated blood at 800 r.p.m. for 10 min. and platelet-poor plasma (PPP) was obtained after a second centrifugation of samples at 2500 r.p.m. for 10 min. Light transmission was adjusted to 0% with PRP and to 100% with PPP for each measurement. Curves were recorded during 5 min. and platelet aggregation was determined as the maximal percent change in light transmittance using platelet-poor plasma as a reference. ADP 5 and 20 μ M were used to assess P2Y₁₂-dependent pathway aggregation, arachidonic acid (AA) 1.5 μ M were used to study the response to COX-2, and thrombin receptor-activated peptide (TRAP) 25 μ M were used to stimulate thrombin-dependent platelet aggregation.

Inhibition of platelet aggregation (IPA) was defined as the relative percent decrease in maximal aggregation, and was calculated as (baseline aggregation response – aggregation at the different timepoints of the study) / baseline aggregation response x 100.

Platelet P2Y₁₂ reactivity index (PRI): The PRI was determined through assessment of vasodilator stimulated phosphoprotein (VASP) phosphorylation according to standard protocols. In brief, VASP phosphorylation was measured by quantitative flow cytometry (Coulter EPICS XL-MCL system II software, Miami, Florida) using commercially available labeled monoclonal antibodies (Biocytex Inc., Marseille, France). The PRI was calculated after measuring the mean fluorescence intensity of VASP phosphorylation levels following challenge with prostaglandin E₁ (PGE₁) and prostaglandin E₁ plus ADP. PGE₁ increases VASP phosphorylation levels through stimulation of adenylate cyclase, while ADP binding to purinergic receptors leads to inhibition of adenylate cyclase. Therefore, the addition of ADP to prostaglandin E₁-stimulated platelets reduces levels of prostaglandin E₁-induced VASP phosphorylation. Elevated PRI values are indicative of upregulation of the P2Y₁₂ signaling pathway.

Clinical outcomes

Safety was assessed by evaluating vital signs, all reports of bleeding, and all reported cardiovascular adverse events including death, myocardial infarction and stroke. Bleeding was classified as fatal, major, minor or insignificant according to the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) criteria.

Sample size

To estimate the sample size, and according to previous pharmacodynamics studies, we hypothesized a 27% mean reduction in the primary endpoint following treatment with LA plus prasugrel compared with aspirin plus prasugrel. Therefore, at least 30 subjects would be required to provide an 80% power to detect a statistical difference between groups with a two-sided α level of 0.05.

Statistical analysis

Normally distributed continuous variables are presented as mean \pm standard deviation. Variables were analyzed for a normal distribution with the Kolmogorov-Smirnov test. Categorical variables are expressed as frequencies and percentages. Confidence intervals (CI) and all test of statistical significance for treatment comparisons were evaluated at a two-tailed significance level of 0.05.

All statistical comparisons of platelet function between prasugrel plus LA and prasugrel plus aspirin for the primary and secondary endpoints with continuous variables were conducted using a linear mixed-effect model for repeated measures. In this model, baseline levels of platelet function were considered as covariance, healthy subjects as random effects and treatment group, sequence, and treatment-group-by-sequence (treatment by period interaction to test for carryover effects) as fixed effects. All analyses of platelet function were conducted in all randomized subjects who received at least one dose of study drug. Statistical analysis was performed using SPSS / PC 17 (SPSS Inc. Chicago, Illinois).

RESULTS

Patient population

A total of 51 subjects were screened and 30 were randomly assigned to either LA plus prasugrel, or aspirin plus prasugrel (aged 26.1 ± 4.9 , 46.6 % women). Of these 30 subjects, and after 2-weeks washout period, 29 completed the second treatment period. One subject who was initially assigned to the LA group in the first treatment period was found to have an exclusion criterion (prior diagnosis of pituitary microadenoma), and did not crossover to aspirin. No thrombotic cardiovascular events were found. According to safety endpoint, only one insignificant bleedings in the LA group were reported.

Platelet function profiles

There were no differences in platelet function at baseline between LA plus prasugrel and aspirin plus prasugrel groups with all platelet function test assessed (table 9). No statistically significant differences were also observed by sequence, period, or the treatment-by-period interaction, which suggest no carryover effect ($p = \text{NS}$ for all platelet function tests).

Table 11.- Platelet function profiles according to treatment assigned (I).

	LYSINE ACETYLSALICYLATE (n = 30)	ASPIRIN (n = 29)	<i>Lysine Acetylsalicylate Group Mean Difference (95% CI)</i>	<i>P-Value</i>
AA 1.5 μM (%)				
Baseline PR	80.1 \pm 9.9	82.8 \pm 12.0	- 2.7 (-8.4 to 3.1)	0.352
IPA 30 min	85.3 \pm 7.2	44.3 \pm 32.6	30.2 (11.1 to 49.3)	0.003
IPA 1 h	84.7 \pm 5.7	54.0 \pm 28.2	27.7 (10.4 to 45.1)	0.002
IPA 4 h	86.8 \pm 7.0	70.0 \pm 28.2	17.5 (0.1 to 35.0)	0.048
IPA 24 h	88.4 \pm 6.6	90.4 \pm 5.5	- 2.9 (-7.6 to 1.7)	0.209
ADP 5 μM (%)				
Baseline PR	60.9 \pm 24.4	65.3 \pm 23.7	- 4.4 (-17.0 to 8.1)	0.482
IPA 30 min	76.0 \pm 22.7	70.6 \pm 28.6	- 0.1 (-20.3 to 20.1)	0.988
IPA 1 h	89.6 \pm 11.1	88.8 \pm 9.0	- 3.8 (-11.9 to 4.3)	0.347
IPA 4 h	85.7 \pm 14.9	93.8 \pm 7.6	- 7.5 (-16.9 to 1.9)	0.117
IPA 24 h	85.7 \pm 16.6	87.5 \pm 9.5	- 6.6 (-17.9 to 4.6)	0.243
ADP 20 μM (%)				
Baseline PR	72.1 \pm 11.4	75.6 \pm 10.4	- 3.5 (-9.1 to 2.2)	0.236
IPA 30 min	70.0 \pm 24.6	60.6 \pm 33.6	6.9 (-16.4 to 30.2)	0.554
IPA 1 h	84.2 \pm 12.3	84.4 \pm 10.9	- 6.5 (-15.5 to 2.5)	0.153
IPA 4 h	87.2 \pm 11.8	89.7 \pm 8.6	- 4.4 (-12.2 to 3.4)	0.260
IPA 24 h	83.5 \pm 13.3	83.6 \pm 9.4	- 4.4 (-14.0 to 5.1)	0.355

Values are mean \pm standard deviation. AA: Arachidonic acid. ADP: Adenosine Diphosphate. IPA: Inhibition of Platelet Aggregation. LA: Lysine Acetylsalicylate. TRAP: Thrombin Receptor-Activated Peptide. PR: Platelet Reactivity.

Table 12.- Platelet function profiles according to treatment assigned (II).

	LYSINE ACETYLSALICYLATE (n = 30)	ASPIRIN (n = 29)	<i>Lysine Acetylsalicylate Group Mean Difference (95% CI)</i>	<i>P-Value</i>
TRAP 25 μM (%)				
Baseline PR	76.3 \pm 7.7	76.6 \pm 6.8	1.2 (-2.6 to 5.0)	0.526
IPA 30 min	19.5 \pm 12.6	10.0 \pm 19.1	19.1 (6.0 to 32.1)	0.005
IPA 1 h	22.0 \pm 14.9	13.6 \pm 12.4	9.7 (-1.5 to 20.9)	0.089
IPA 4 h	24.5 \pm 17.5	19.4 \pm 21.0	13.8 (-2.2 to 29.8)	0.089
IPA 24 h	24.5 \pm 15.9	21.9 \pm 21.6	0.85 (-15.5 to 17.2)	0.917
PRI (%)				
Baseline	76.8 \pm 22.7	77.4 \pm 13.2	- 0.6 (-10.4 to 9.1)	0.895
30 min	15.1 \pm 18.3	15.7 \pm 21.3	7.8 (-7.1 to 22.6)	0.300
1 h	6.6 \pm 9.4	4.0 \pm 6.8	2.5 (-1.9 to 6.9)	0.265
4 h	4.9 \pm 8.5	8.4 \pm 18.0	- 1.2 (-12.0 to 9.5)	0.820
24 h	10.0 \pm 10.9	9.0 \pm 8.9	1.5 (-6.1 to 9.2)	0.690

Values are mean \pm standard deviation. AA: Arachidonic acid. ADP: Adenosine Diphosphate. IPA: Inhibition of Platelet Aggregation. LA: Lysine Acetylsalicylate. TRAP: Thrombin Receptor-Activated Peptide. PR: Platelet Reactivity. PRI: Platelet Reactivity Index.

The primary endpoint of the study, IPA at 30 minutes after AA 1.5 μ M, was significantly higher in subjects treated with LA compared with aspirin: 85.3 \pm 7.2% vs. 44.3 \pm 32.6% respectively; mean difference 30.2 (95% CI: 11.1 to 49.3), p = 0.003 (figure 15). This differential effect was observed at 1 hour (84.7 \pm 5.7% vs. 54.0 \pm 28.2%; mean difference 27.7; 95% CI: 10.4 to 45.1; p = 0.002) and 4 hours (86.8 \pm 7.0% vs. 70.0 \pm 28.2%; mean difference 17.5; 95% CI: 0.1 to 35.0; p = 0.048), but not at 24 hours (88.4 \pm 6.6% vs. 90.4 \pm 5.5%; mean difference -2.9; 95% CI: -7.6 to 1.7; p = 0.209).

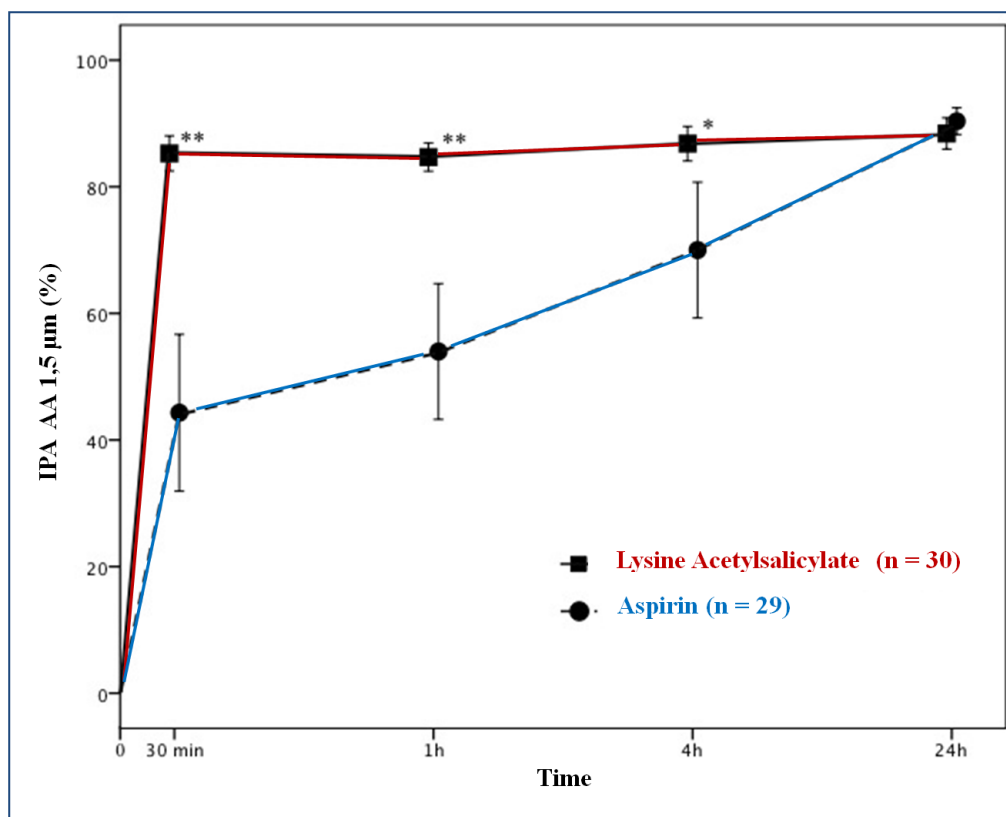


Figure 15.- Inhibition of Platelet Aggregation (IPA). Platelet-rich plasma stimulated with AA 1.5 μM .

Platelet function profiles according to P2Y_{12} -dependent pathway aggregation were shown in figures 16A and 16B. There were no differences between LA and aspirin groups assessed by ADP 5 μM and 20 μM ($p = \text{NS}$). These results were similar when exploring platelet activation with PRI (figure 16D).

When thrombin-dependent platelet aggregation was analyzed with TRAP 25 μ M, subjects treated with LA showed a significant reduction in platelet function at 30 minutes ($19.5 \pm 12.6\%$ vs. $10.0 \pm 19.1\%$; mean difference 19.1; 95% CI: 6.0 to 32.1; $p = 0.005$) and a trend at 1 hour ($22.0 \pm 14.9\%$ vs. $13.6 \pm 12.4\%$; mean difference 9.7; 95% CI: -1.5 to 20.9; $p = 0.089$), and at 4 hours ($24.5 \pm 17.5\%$ vs. $19.4 \pm 21.0\%$; mean difference 13.8; 95% CI: -2.2 to 29.8; $p = 0.089$), but not at 24 hours ($24.5 \pm 15.9\%$ vs. $21.9 \pm 21.6\%$; mean difference 0.85; 95% CI: -15.5 to 17.2; $p = 0.917$) when compared with aspirin group (figure 16 C).

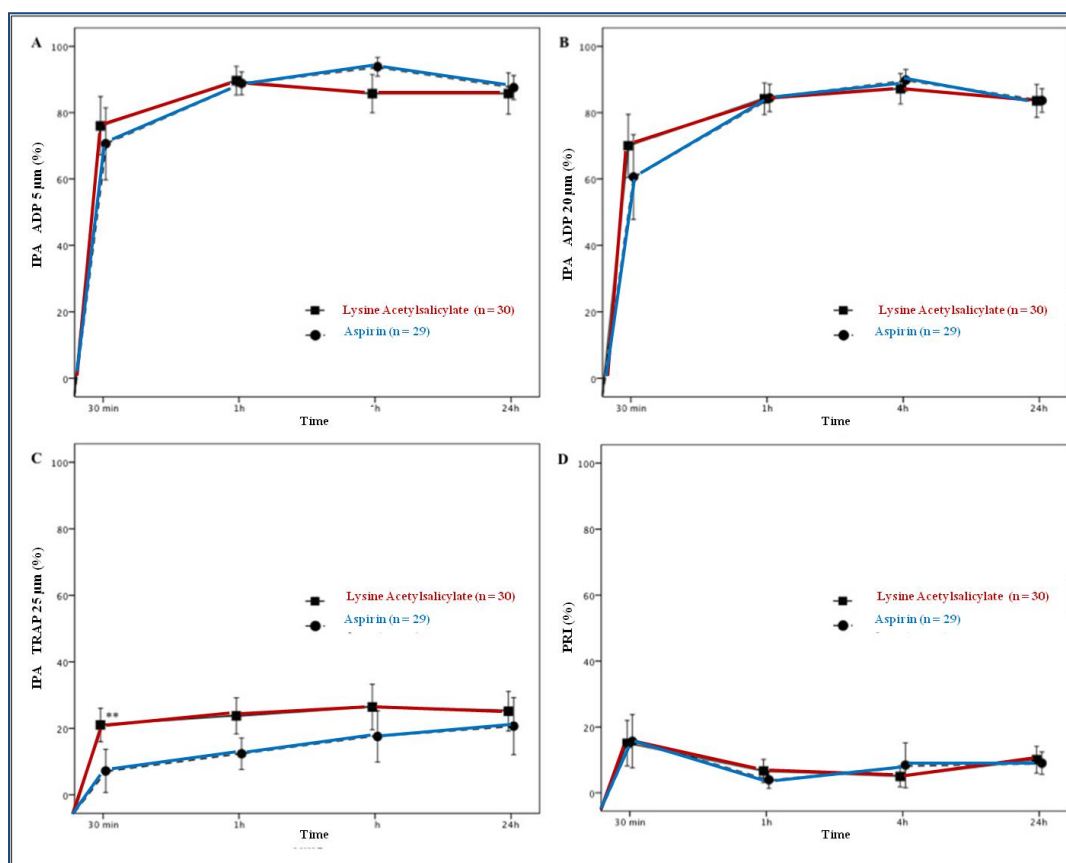


Figure 16.- **A: Inhibition of Platelet Aggregation (IPA).** Platelet-rich plasma stimulated with ADP 5 μ M. **B: Inhibition of Platelet Aggregation.** Platelet-rich plasma stimulated with ADP 20 μ M. **C: Inhibition of Platelet Aggregation.** Platelet-rich plasma stimulated with TRAP 25 μ M. **D: Inhibition of Platelet Activation expressed as Platelet reactivity index (PRI).**

Figure 17 shows individual subject antiplatelet response after AA 1.5 μ M at baseline, 30 min, 1h, 4h and 24h. Subjects treated with LA presented less variability and faster and greater decrease in platelet inhibition compared with aspirin group.

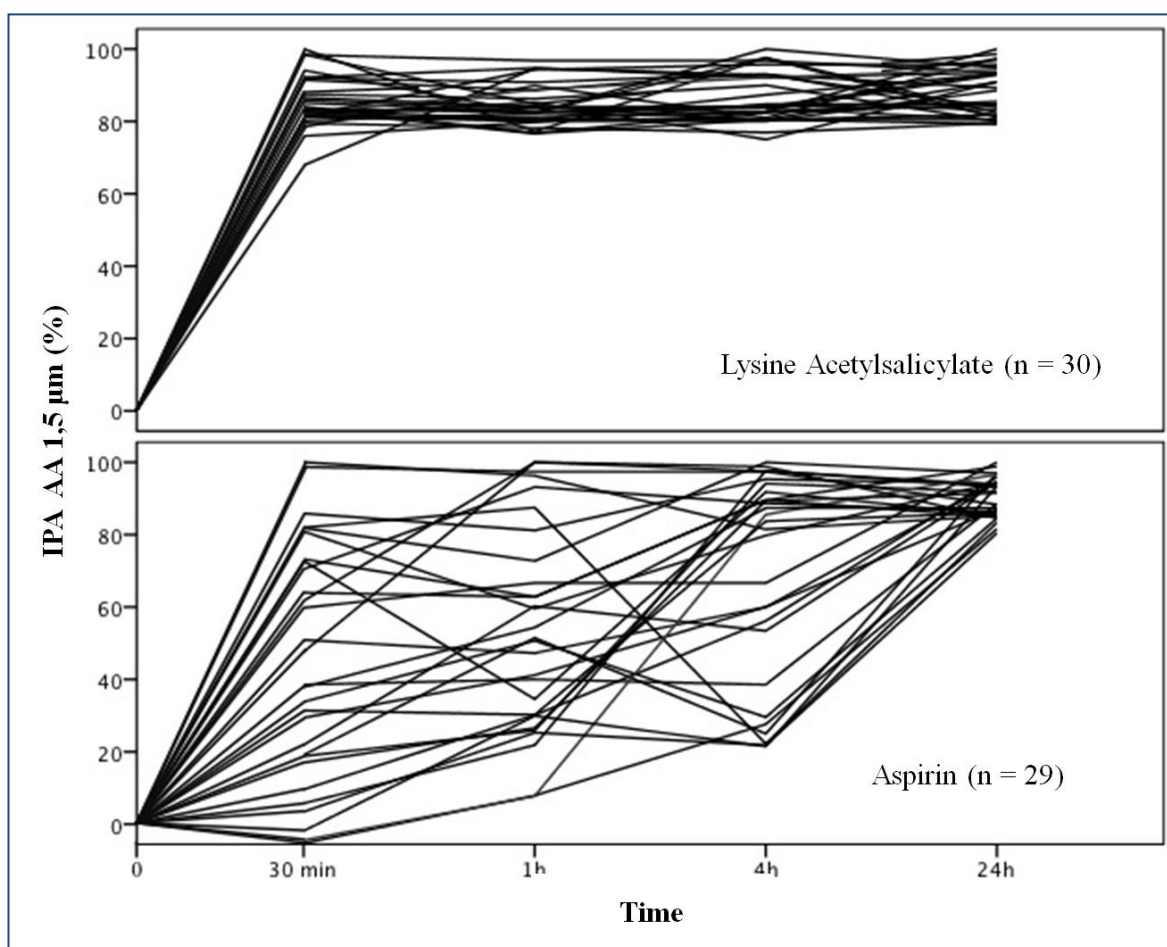


Figure 17.- Individual subject antiplatelet response (IPA). Platelet-rich plasma stimulated with AA 1.5 μ M.

DISCUSSION

The ECCLIPSE study is the first randomized clinical trial to analyze the pharmacodynamic effect of intravenous LA plus oral prasugrel compared to aspirin plus prasugrel orally in healthy volunteers, simulating an “STEMI scenario”. In particular, the results of the study show that LA plus prasugrel in these subjects was associated with higher platelet inhibition than aspirin plus prasugrel. Further, the administration of LA resulted in a rapid and marked reduction on platelet reactivity by 30 min compared to aspirin, and these differences maintained in the first 4 hours after loading dose. Finally, LA achieved a more consistent platelet inhibition and less inter- and intraindividual variability.

Interestingly, LA not only increased platelet inhibition when COX pathway was assessed, but also showed a reduction in the thrombin-dependent platelet pathway aggregation. This unexpected finding could suggest the effect of LA in the inhibition of different platelet activation pathways. In fact, an additive effect on platelet inhibition is observed when a more effective antithrombotic strategy is used to achieve an earlier antiplatelet effect. However, it also could be explained by the high variability of the platelet function assays and the marginal differences in both groups at just one time point (30 minutes).

Previous reports assessed the safety and efficacy of different doses of aspirin in the setting of both, STEMI and non-STEMI population. These studies showed that the administration of high-dose of aspirin (loading and maintenance) increase the rate of major bleeding without providing additional ischemic benefit

compared to low-dose. In the ECCLIPSE trial LA plus prasugrel was well tolerated and no significant differences were found in adverse events compared to aspirin plus prasugrel group.

Current investigation concentrates on the field of P2Y₁₂-ADP platelet receptor inhibition. Prasugrel and ticagrelor are characterized by more prompt, potent and predictable antiplatelet effects and greater clinical efficacy over clopidogrel. However, these drugs still present limitations, including a delayed antiplatelet effect, particularly in the setting of STEMI. In the ECCLIPSE trial LA achieved a platelet inhibition more than 82% by 30 min after loading dose, meanwhile aspirin only inhibited 44%. However, aspirin only achieved more than 70% platelet inhibition at 4 hours. These findings could have clinical implications, since recent reports have showed that high aspirin treatment platelet reactivity is associated with a higher risk for cardiovascular outcomes. In fact, a more rapid and marked platelet inhibition with ticagrelor, in prehospital STEMI patients, has been currently associated with a significant reduction in stent thrombosis.

Although cangrelor, an intravenous P2Y₁₂-ADP inhibitor with a rapid onset of action, achieves faster and greater inhibition than clopidogrel and could reduce clinical events, its rapid offset of action requires an appropriate transitioning strategy to maintain platelet inhibition. Furthermore, it has not been compared with the standard of care, prasugrel or ticagrelor, in clinical trials. In the ECCLIPSE trial, and unlike cangrelor, LA achieved more consistent platelet inhibition compared to aspirin, which was maintained at least 24 h.

STUDY LIMITATIONS

This study has some limitations. First, there was a phase I trial enrolled healthy volunteers, and this fact may limit the generalization to clinical patient population with cardiovascular disease. Second, the relation between clinical outcomes and the speed of onset and magnitude of platelet inhibition with LA is unknown. Finally, the present study was not designed to evaluate maintenance doses. However, protocol design and statistical analyses reinforced the value of the results obtained, which suggested a pharmacodynamic benefit of LA compared with aspirin.

CONCLUSIONS

The administration of intravenous LA plus oral prasugrel in healthy volunteers resulted in a significant reduction of platelet reactivity compared with aspirin plus prasugrel orally. LA achieves platelet inhibition faster, greater and with less intra- and interindividual variability than aspirin.

10. ***ANEXOS***

10.- ANEXOS

10.1 Anexo 1. Consentimiento informado.

HOJA DE INFORMACIÓN AL VOLUNTARIO SANO Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN COMBINADA DE PRASUGREL Y ACETILSALICILATO DE LISINA INTRAVENOSO FRENTE A PRASUGREL Y ASPIRINA EN LA AGREGACIÓN PLAQUETARIA EN VOLUNTARIOS SANOS.

Apreciado Sr. / Sra.:

Nos gustaría explicarle por qué pensamos que podría participar usted en este estudio y qué es lo que tendría que hacer en caso de que así lo decidiera. El médico responsable del mismo en su hospital está a su disposición para contestar todas sus preguntas. Le pedimos por favor que lea atentamente el documento que tiene ante usted y que decida si estaría dispuesto a participar en el estudio.

¿Cuál es el objetivo del estudio?

Las plaquetas son células de la sangre que cuando se “pegan”, pueden formar un trombo que lleve a un ataque al corazón. Cuanta más facilidad tengan para “pegarse”, más probable es tener un infarto. Por ello se administran fármacos antiagregantes como la aspirina. Durante la fase aguda de los infartos del corazón está recomendado su empleo asociado a otros fármacos antiplaquetarios como el prasugrel. Además existe otro fármaco de la familia de la aspirina llamado acetilsalicilato de lisina, que se administra de forma intravenosa y que ya lo emplean en los servicios de urgencia, que parece tener un efecto más rápido que la aspirina oral.

El objetivo de este estudio es conocer mejor cómo actúan sobre las plaquetas la combinación de dos tipos de fármacos antiagregantes y que son el prasugrel junto con aspirina y el prasugrel junto con acetilsalicilato de lisina. El propósito por lo tanto es estudiar cómo funcionan sus plaquetas y cómo responden a los fármacos del estudio.

¿Está usted obligado a participar en este estudio?

Su participación en el estudio es completamente voluntaria. Más aún, si en algún momento usted cambiara de opinión al respecto, puede abandonar el estudio.

¿En qué consiste el estudio?

El estudio consta de dos periodos de tratamiento consistentes cada uno de ellos en un ingreso de unas 5 horas más una visita adicional a las 24 horas en cada periodo. Esto quiere decir que usted recibirá los dos grupos de tratamiento con una separación de unos 15 días.

En cada periodo, tras el ingreso, recibirá uno de los dos grupos de fármacos, bien prasugrel más aspirina o bien prasugrel más acetilsalicilato de lisina intravenoso, en dosis única. Inmediatamente antes de los fármacos y a los 30 min, 1 hora, y 4 horas tras la administración de la medicación, se le realizarán unas extracciones de sangre.

Además deberá acudir, en cada periodo, a las 24 horas de la administración, para otra extracción de sangre adicional.

¿Qué pasa si usted decide participar en el estudio?

Si usted decide voluntariamente participar en el estudio, y tras haber recibido información sobre los procedimientos a los que será sometido y haber firmado el consentimiento informado, se le recogerán una serie de datos de su historia clínica y se le realizará una exploración física. También se le realizará una analítica de sangre y de orina (incluyendo una determinación para hepatitis B, C y VIH) y una determinación de drogas en orina. Todo ello destinado a verificar si cumple con los criterios adecuados para su participación.

Si es idóneo para participar en el estudio, se le citará para acudir al Laboratorio de Función Plaquetaria del Servicio de Cardiología del Hospital Clínico San Carlos. Deberá acudir tras 10 horas de ayuno a primera hora de la mañana (entorno a las 7.45 h). En ese momento se le repetirá la exploración física, y se le realizará un test de drogas en orina y un test de embarazo (este último sólo a las mujeres)., Tras verificar que continua siendo apto para participar en el estudio, se le administrará uno de los dos grupos de fármacos, bien prasugrel más aspirina o bien prasugrel más acetilsalicilato de lisina intravenoso, en dosis única.

El primer grupo farmacológico que va a recibir el primer día de su ingreso se decide al azar mediante un ordenador (puramente al azar, como lanzar una moneda al aire).

Posteriormente se realizará una serie de análisis de sangre (en total hasta 5: previa a la administración, a los 30 minutos, a la hora, a las 4 horas y a las 24 horas de la administración).

A las 2 semanas de iniciado el estudio, una vez que su organismo haya “lavado” con seguridad los primeros fármacos, acudirá para recibir la otra combinación de tratamiento. De nuevo acudirá tras 10 horas de ayuno a primera hora de la mañana y se le repetirá la exploración física, el test de drogas en orina y la prueba de embarazo (esta última sólo a las mujeres). Asimismo se verificará que usted continua cumpliendo los criterios para participar en el estudio.

En este periodo se le asignará al otro grupo, recibiendo de nuevo una dosis única (prasugrel más aspirina o bien prasugrel más acetilsalicilato de lisina intravenoso), y realizándose otra serie de análisis (en total hasta 5: previa a la administración, a los 30 minutos, a la hora, a las 4 horas y a las 24 horas de la administración).

Tras haberse realizado una analítica, exploración física y un electrocardiograma para verificar que su estado de salud es óptimo se dará por finalizada su participación en el estudio.

Además durante todo el seguimiento, se le preguntará acerca de cualquier síntoma, malestar o incidencia que pudiera presentar.

Su participación en el estudio no le va a producir ningún beneficio ya que se trata de un ensayo clínico sobre voluntarios sanos, pero recibirán una remuneración de 30 euros por su colaboración.

¿Cuáles son los riesgos y molestias del estudio?

Tratamiento antiagregante

La medicación puede tener efectos secundarios. Usted puede experimentar todos, alguno de ellos o ninguno. Los efectos secundarios más frecuentes de los antiagregantes son: aumento de la propensión a la hemorragia (p. ej., hemorragia nasal, hemorragia de las encías, moratones, hemorragia intestinal y hemorragia por traumatismo). Otros posibles efectos adversos son: trastornos respiratorios como rinitis o asma, urticaria, angioedema, dispepsia, diarrea, dolor abdominal, erupciones cutáneas o vértigo.

Extracción de sangre

En este estudio se extraerán muestras de sangre. La toma de muestras de sangre puede ocasionar alguna molestia y pueden producirse moratones. El volumen total de sangre que se recogerá en cada extracción será aproximadamente de 30 ml.

¿Cuáles son sus derechos?

Como ya se ha explicado anteriormente, la participación en el estudio es voluntaria. Si lo desea, podrá abandonar el estudio en cualquier momento, sin tener que dar ninguna explicación. Sin embargo, si usted decide interrumpir el estudio por alguna molestia, se le pedirá que aporte toda la información relevante al respecto solicitada por su médico.

El médico podrá interrumpir su participación en el estudio si así lo considera oportuno o si usted no cumple con los requerimientos del estudio.

En cuanto al manejo de sus datos personales, usted tendrá acceso a toda la información a través de su médico y tendrá el derecho de borrar, modificar, integrar, actualizar y bloquear estos datos de acuerdo con la legislación vigente.

¿Qué tiene que hacer para participar en el estudio?

Si usted decide participar en el estudio, tendrá que firmar el consentimiento informado de este documento previo a la realización de cualquier procedimiento o prueba relacionada con el mismo. Su firma garantizará que usted ha recibido una información completa y que da su consentimiento para participar en el estudio. La firma se realizará por duplicado, de modo que una de las copias será de su propiedad y la otra quedará archivada en el hospital.

Si usted decide participar en el estudio, su médico general, si usted está de acuerdo, será informado y podrá contactar con el médico responsable del estudio para obtener cualquier información.

¿Cómo se garantiza mi confidencialidad?

El uso de la información relevante para los objetivos del estudio se hará de acuerdo a la legislación vigente respecto a la privacidad, confidencialidad y seguridad de datos (Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal y . y en el Real Decreto 1720/2007).

El médico responsable del estudio, le pedirá información personal, como sus iniciales, género, fecha de nacimiento y otros datos clínicos. Esta información es importante para la adecuada realización del estudio. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo su médico y colaboradores en el estudio podrán relacionar dichos datos con usted y su historia clínica.

También los representantes autorizados por el promotor (CROs) podrán tener acceso directo a sus datos para comprobar la información recogida para el estudio. Estos datos también podrían ser revisados por las autoridades sanitarias y el comité ético de investigación clínica (CEIC) pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Siempre tendrá la posibilidad de retirar su consentimiento y de finalizar su participación en el estudio sin ninguna consecuencia.

. Toda la información clínica permanecerá en equipos informáticos seguros protegidos por contraseñas y accesibles sólo a los investigadores del estudio.

La estructura de la base de datos será tal, que el anonimato será mantenido mediante el uso de códigos identificativos de números y letras. La información clínica codificada será almacenada en un banco de datos seguro en cada centro clínico, protegido con una contraseña y sin acceso a través de la red.

Se le informa de que sus datos de carácter personal serán incorporados en el Fichero de Investigación Clínica cuyo responsable es el Hospital Clínico San Carlos con la finalidad de llevar a cabo la realización de este ensayo clínico en el que se le propone participar.

Así mismo se le informa de la posibilidad de ejercer los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición mediante escrito dirigido al Hospital Clínico San Carlos de Madrid, aportando fotocopia del Documento Nacional de Identidad e identificación del investigador del Estudio.

No habrá explotación comercial de las muestras. En las publicaciones, se mantendrá la confidencialidad de su identidad.

¿Tiene el estudio algún coste económico para mí?

La participación en este estudio no supondrá ningún coste para usted.

Se ruega que informe inmediatamente a su médico responsable del estudio en caso de cualquier perjuicio que pueda ocurrir en relación con el estudio y sus posibles gastos relacionados. Al firmar la parte de este documento titulada “Consentimiento Informado” no perderá ninguno de los derechos mencionados.

¿Cómo obtener información adicional?

Si desea información adicional sobre el estudio puede contactar con algunas de las personas indicadas abajo que le ayudarán:

1. Dr. David Vivas Balcones. Tfno.: 913303149.
2. Dr. Agustín C. Martín García. Tfno.: 913302712.

Gracias por su colaboración y su ayuda

CONSENTIMIENTO INFORMADO ESCRITO

Yo,.....

Acepto participar en el estudio clínico descrito en este documento.

Mi consentimiento es la expresión de mi decisión, en la que no han influido posibles promesas de beneficio económico o de otra naturaleza, ni obligación alguna hacia el médico.

Soy consciente de que puedo retirarme del estudio en cualquier momento y que las normas de práctica clínica actual en el manejo y tratamiento estarán garantizadas. Soy consciente de que no tendré que dar ninguna explicación en caso de retirarme del estudio, excepto si el motivo está en relación con la aparición de síntomas o algún tipo de molestia. En este caso, informaré al médico responsable del estudio sobre mis síntomas.

He tenido la oportunidad de leer toda la información recogida en este documento y de preguntar sobre los objetivos y metodología del estudio, los posibles beneficios, riesgos y derechos como participante.

Conozco la necesidad de seguir las instrucciones que recibiré del médico responsable del estudio referente a la recogida de datos clínicos.

He comprendido toda la información que he recibido y he tenido el tiempo necesario para considerar mi participación en el estudio.

Confirmando que he recibido una copia del presente documento.

FIRMA DEL VOLUNTARIO:.....

FECHA:.....

NOMBRE DEL INVESTIGADOR:.....

FIRMA DEL INVESTIGADOR:.....

FECHA:.....

10.2 Anexo 2. Desarrollo del estudio.

Visita de selección

A los sujetos que acudían a la consulta del Laboratorio de Función Plaquetaria se les explicó detenidamente en qué consistía el estudio y se les facilitó la Hoja de Información al Voluntario del estudio.

Los sujetos que decidían libremente participar en el estudio, firmaron el consentimiento informado antes de la realización de ningún procedimiento. Se les realizó:

- ✓ Anamnesis.
- ✓ Exploración física completa.
- ✓ Constantes vitales: TA sistólica y diastólica, frecuencia cardíaca y temperatura.
- ✓ Electrocardiograma.
- ✓ Análisis:
 - Hemograma.
 - Bioquímica: glucosa, Na, K, Cl, Ca, P, urea, creatinina, ácido úrico, ALT, AST, LDH, bilirrubina total, GGT, fosfatasa alcalina, colesterol, triglicéridos, albúmina, proteínas.
 - Coagulación, incluido tiempo de protrombina.
 - Sedimento de orina.
 - Serología (VHB, VHC y VIH).
 - Test de drogas en orina.
 - Determinación del porcentaje de agregación plaquetaria.

Visita de inclusión

Los voluntarios sanos que cumplían todos los criterios para participar en el estudio fueron citados para la primera visita. Debían presentarse en ayunas.

En este momento se realizaron los siguientes procedimientos:

- ✓ Test de drogas en orina.
- ✓ Prueba de embarazo (sólo a las mujeres).
- ✓ Exploración física completa.

Una vez que se hubiera verificado que los sujetos cumplían criterios de inclusión y ninguno de exclusión, fueron aleatorizados en esta visita a través de un sistema informático a recibir tratamiento con dosis única de prasugrel 60 mg vía oral más acetilsalicilato de lisina 450 mg intravenoso (media ampolla en 100 cc de SSF 0.9% a pasar en 10 minutos) o bien dosis única de prasugrel 60 mg vía oral más ácido acetilsalicílico 300 mg vía oral.

Visita A1

El mismo día de la inclusión, tras haberse confirmado su inclusión en el estudio, a los sujetos se les canalizó una vía periférica para la realización de las extracciones en el momento basal, a los 30 minutos, a la hora y a las 4 horas. Se permitía un decalaje de un máximo de 5 minutos entre muestras. Las muestras se extrajeron por una Diplomada Universitaria en Enfermería (DUE), que extrajo cada muestra desde una vena antecubital usando una aguja de 21G un total de 20 ml de sangre.

Aproximadamente a las 8:00-9:00h se les administró la medicación del estudio en el grupo de tratamiento que les hubiera correspondido según la aleatorización.

Durante el tiempo que permanecieron ingresados, se les realizó las determinaciones basal (antes de la medicación), y a los 30 minutos, a la hora y a las 4 horas tras la administración.

Tras la última extracción, se les realizó:

- ✓ Determinación de constantes vitales: TA sistólica y diastólica, frecuencia cardíaca y temperatura.
- ✓ Registro de acontecimientos adversos (si los hubiera).

Tras esto, los sujetos abandonaron la unidad. Se les insistía a los sujetos que ante la más mínima alteración en su estado de salud, debían contactar telefónicamente de manera inmediata con el investigador principal del estudio.

Visita A2

Los sujetos acudieron a la mañana siguiente de la toma de la medicación en este primer periodo.

Se les realizó:

- ✓ Determinación de las constantes vitales (TA sistólica y diastólica, frecuencia cardíaca y temperatura).
- ✓ Extracción de sangre correspondiente a la determinación de las 24 h (con una desviación máxima permitida de 5 minutos).
- ✓ Registro de acontecimientos adversos (si los hubiera).

Tras esto, los sujetos abandonaron las consultas y no debieron volver hasta el siguiente periodo de tratamiento.

Se les informó a los sujetos de que, ante cualquier acontecimiento que les ocurra tras abandonar la consulta, debían contactar inmediatamente con el investigador del estudio.

Periodo de lavado

Se ha establecido en dos semanas el periodo de lavado.

Visita B1

Tras cumplir el tiempo mínimo de periodo de lavado establecido, los sujetos acudieron a la consulta del Laboratorio de Función Plaquetaria para recibir la otra combinación farmacológica del ensayo. Los sujetos debían acudir en ayunas.

Se realizó lo siguiente:

- ✓ Test de drogas en orina.
- ✓ Prueba de embarazo (sólo a las mujeres).
- ✓ Constantes vitales (TA sistólica y diastólica, frecuencia cardíaca y temperatura).
- ✓ Exploración física completa.
- ✓ Se verificará que los sujetos continúan cumpliendo los criterios de inclusión.
- ✓ Registro de acontecimientos adversos (si los hubiera).

El resto de procedimientos fueron los mismos que se les realizaron en el primer periodo de tratamiento.

Visita B2

Los sujetos acudieron a la mañana siguiente de la toma de la medicación en este segundo periodo. Se repitió la extracción, estudio de función plaquetaria y los procedimientos fueron los mismos que los realizados en el primer periodo de tratamiento. De forma adicional se realizó:

- ✓ Determinación de constantes vitales: TA sistólica y diastólica, frecuencia cardiaca y temperatura.
- ✓ Análisis:
 - Hemograma.
 - Bioquímica: Glucosa, Na, K, Cl, Ca, P, urea, creatinina, ácido úrico, ALT, AST, LDH, bilirrubina total, GGT, fosfatasa alcalina, colesterol, triglicéridos, albúmina, proteínas.
 - Coagulación, incluido tiempo de protrombina.
 - Sedimento de orina.
- ✓ Electrocardiograma.

Se consideró que un sujeto había finalizado el estudio cuando realizó la última visita del último periodo de tratamiento.

A continuación se muestra un esquema con los procedimientos del estudio:

Visita	Selección	Inclusión y Visita A1	Visita A2	Periodo de lavado	Visita B1	Visita B2
Firma consentimiento informado (CI)	X					
Exploración física completa	X	X			X	
Constantes vitales	X	X	X		X	X
Análisis	X					X
Serología	X					
Test de drogas	X	X			X	
Test embarazo		X			X	
ECG	X					X
Aleatorización		X				
Administración de medicación		X			X	
Acontecimientos Adversos	X	X	X	X	X	X

11. ***BIBLIOGRAFÍA***

11.- BIBLIOGRAFÍA

1. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012;380:2095-128.
2. Perk J, De Backer G, Gohlke H, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J* 2012;33:1635-701.
3. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2010;121:948-54.
4. Degano IR, Elosua R, Marrugat J. Epidemiology of acute coronary syndromes in Spain: estimation of the number of cases and trends from 2005 to 2049. *Rev Esp Cardiol* 2013;66:472-81.
5. Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (2). *N Engl J Med* 1992;326:310-8.
6. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001;104:365-72.
7. Skalen K, Gustafsson M, Rydberg EK, et al. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature* 2002;417:750-4.
8. Xu G, Watanabe T, Iso Y, et al. Preventive effects of heregulin-beta1 on macrophage foam cell formation and atherosclerosis. *Circ Res* 2009;105:500-10.
9. Doran AC, Meller N, McNamara CA. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:812-9.
10. Jones CB, Sane DC, Herrington DM. Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovasc Res* 2003;59:812-23.
11. Cheruvu PK, Finn AV, Gardner C, et al. Frequency and distribution of thin-cap fibroatheroma and ruptured plaques in human coronary arteries: a pathologic study. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:940-9.
12. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1262-75.
13. Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2012;33:2569-619.

14. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011;32:2999-3054.
15. Mandelzweig L, Battler A, Boyko V, et al. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: Characteristics, treatment, and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean Basin in 2004. *Eur Heart J* 2006;27:2285-93.
16. Keeley EC, Boura JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet* 2003;361:13-20.
17. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet* 1988;2:349-60.
18. Windecker S, Kolh P, Alfonso F, et al. 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur Heart J* 2014.
19. Stone GW, Witzenbichler B, Guagliumi G, et al. Bivalirudin during primary PCI in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2008;358:2218-30.
20. Shahzad A, Kemp I, Mars C, et al. Unfractionated heparin versus bivalirudin in primary percutaneous coronary intervention (HEAT-PPCI): an open-label, single centre, randomised controlled trial. *Lancet* 2014.
21. Yusuf S, Mehta SR, Chrolavicius S, et al. Effects of fondaparinux on mortality and reinfarction in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: the OASIS-6 randomized trial. *JAMA* 2006;295:1519-30.
22. Eagle KA, Lim MJ, Dabbous OH, et al. A validated prediction model for all forms of acute coronary syndrome: estimating the risk of 6-month postdischarge death in an international registry. *JAMA* 2004;291:2727-33.
23. Subherwal S, Bach RG, Chen AY, et al. Baseline risk of major bleeding in non-ST-segment-elevation myocardial infarction: the CRUSADE (Can Rapid risk stratification of Unstable angina patients Suppress ADverse outcomes with Early implementation of the ACC/AHA Guidelines) Bleeding Score. *Circulation* 2009;119:1873-82.
24. Roberts HR, Monroe DM, Escobar MA. Current concepts of hemostasis: implications for therapy. *Anesthesiology* 2004;100:722-30.
25. Healy AM, Pickard MD, Pradhan AD, et al. Platelet expression profiling and clinical validation of myeloid-related protein-14 as a novel determinant of cardiovascular events. *Circulation* 2006;113:2278-84.
26. Mendolicchio GL, Ruggeri ZM. New perspectives on von Willebrand factor functions in hemostasis and thrombosis. *Semin Hematol* 2005;42:5-14.
27. Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med* 2002;8:1227-34.

28. Bennett JS, Berger BW, Billings PC. The structure and function of platelet integrins. *J Thromb Haemost* 2009;7 Suppl 1:200-5.
29. Kulkarni S, Dopheide SM, Yap CL, et al. A revised model of platelet aggregation. *J Clin Invest* 2000;105:783-91.
30. Meadows TA, Bhatt DL. Clinical aspects of platelet inhibitors and thrombus formation. *Circ Res* 2007;100:1261-75.
31. Leger AJ, Covic L, Kuliopulos A. Protease-activated receptors in cardiovascular diseases. *Circulation* 2006;114:1070-7.
32. Schafer AI. Antiplatelet therapy with glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitors and other novel agents. *Tex Heart Inst J* 1997;24:90-6.
33. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 2008;359:938-49.
34. Brass LF, Zhu L, Stalker TJ. Minding the gaps to promote thrombus growth and stability. *J Clin Invest* 2005;115:3385-92.
35. Vivas D, Angiolillo DJ. Platelet P2Y₁(2) receptor inhibition: an update on clinical drug development. *Am J Cardiovasc Drugs* 2010;10:217-26.
36. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007;357:2482-94.
37. Patrono C, Collier B, FitzGerald GA, Hirsh J, Roth G. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004;126:234S-64S.
38. Patrono C, Garcia Rodriguez LA, Landolfi R, Baigent C. Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *N Engl J Med* 2005;353:2373-83.
39. Cadroy Y, Bossavy JP, Thalamas C, Sagnard L, Sakariassen K, Boneu B. Early potent antithrombotic effect with combined aspirin and a loading dose of clopidogrel on experimental arterial thrombogenesis in humans. *Circulation* 2000;101:2823-8.
40. Angiolillo DJ, Ferreiro JL. Platelet adenosine diphosphate P2Y₁₂ receptor antagonism: benefits and limitations of current treatment strategies and future directions. *Rev Esp Cardiol* 2010;63:60-76.
41. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;109:3171-5.
42. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, et al. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1505-16.
43. Niitsu Y, Jakubowski JA, Sugidachi A, Asai F. Pharmacology of CS-747 (prasugrel, LY640315), a novel, potent antiplatelet agent with in vivo P2Y₁₂ receptor antagonist activity. *Semin Thromb Hemost* 2005;31:184-94.
44. Wallentin L, Varenhorst C, James S, et al. Prasugrel achieves greater and faster P2Y₁₂receptor-mediated platelet inhibition than clopidogrel due to more efficient generation of its active metabolite in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2008;29:21-30.
45. Jakubowski JA, Payne CD, Weerakkody GJ, et al. Dose-dependent inhibition of human platelet aggregation by prasugrel and its interaction with aspirin in healthy subjects. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007;49:167-73.

46. Weerakkody GJ, Jakubowski JA, Brandt JT, et al. Comparison of speed of onset of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel versus prasugrel in healthy volunteers and correlation with responder status. *Am J Cardiol* 2007;100:331-6.
47. Brandt JT, Payne CD, Wiviott SD, et al. A comparison of prasugrel and clopidogrel loading doses on platelet function: magnitude of platelet inhibition is related to active metabolite formation. *Am Heart J* 2007;153:66 e9-16.
48. Varenhorst C, James S, Erlinge D, et al. Genetic variation of CYP2C19 affects both pharmacokinetic and pharmacodynamic responses to clopidogrel but not prasugrel in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2009;30:1744-52.
49. Wallentin L. P2Y(12) inhibitors: differences in properties and mechanisms of action and potential consequences for clinical use. *Eur Heart J* 2009;30:1964-77.
50. Butler K, Teng R. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability of multiple ascending doses of ticagrelor in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2010;70:65-77.
51. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009;361:1045-57.
52. Aron E, Delbarre B, Besnard JC. [Gastrointestinal hemorrhage from aspirin. Advantages of lysine acetylsalicylate]. *Therapie* 1976;31:247-56.
53. Roussel B, Delobel J, Sangosse J, Dieval J, Claisse JF, Lienard J. [Effects of 2 doses of lysine acetylsalicylate on platelet aggregation, beta-thromboglobulin and platelet factor 4 in aged atherosclerotic patients]. *Therapie* 1988;43:267-71.
54. Bretagne JF, Feuillu A, Gosselin M, Gastard J. [Aspirin and gastroduodenal toxicity. A double-blind endoscopic study of the effects of placebo, aspirin and lysine acetylsalicylate in healthy subjects]. *Gastroenterol Clin Biol* 1984;8:28-32.
55. Gurfinkel EP, Altman R, Scazziotto A, Heguilen R, Mautner B. Fast platelet suppression by lysine acetylsalicylate in chronic stable coronary patients. Potential clinical impact over regular aspirin for coronary syndromes. *Clin Cardiol* 2000;23:697-700.
56. Majluf-Cruz A, Chavez-Ochoa AR, Majluf-Cruz K, et al. Effect of combined administration of clopidogrel and lysine acetylsalicylate versus clopidogrel and aspirin on platelet aggregation and activated GPIIb/IIIa expression in healthy volunteers. *Platelets* 2006;17:105-7.
57. Wright RS, Anderson JL, Adams CD, et al. 2011 ACCF/AHA Focused Update of the Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (Updating the 2007 Guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2011;123:2022-60.
58. O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2013;127:e362-425.
59. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2013;310:2191-4.
60. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2007;357:2001-15.

61. Gremmel T, Eslam RB, Koppensteiner R, Lang IM, Panzer S. Prasugrel reduces agonists' inducible platelet activation and leukocyte-platelet interaction more efficiently than clopidogrel. *Cardiovasc Ther* 2013;31:e40-5.
62. Lordkipanidze M, Pharand C, Schampaert E, Turgeon J, Palisaitis DA, Diodati JG. A comparison of six major platelet function tests to determine the prevalence of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2007;28:1702-8.
63. Patrono C, Ciabattini G, Pinca E, et al. Low dose aspirin and inhibition of thromboxane B2 production in healthy subjects. *Thromb Res* 1980;17:317-27.
64. Patrignani P, Filabozzi P, Patrono C. Selective cumulative inhibition of platelet thromboxane production by low-dose aspirin in healthy subjects. *J Clin Invest* 1982;69:1366-72.
65. Gatti G, Barzaghi N, Attardo Parrinello G, Vitiello B, Perucca E. Pharmacokinetics of salicylic acid following administration of aspirin tablets and three different forms of soluble aspirin in normal subjects. *Int J Clin Pharmacol Res* 1989;9:385-9.
66. Mehta SR, Bassand JP, Chrolavicius S, et al. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2010;363:930-42.
67. Yu J, Mehran R, Dangas GD, et al. Safety and efficacy of high- versus low-dose aspirin after primary percutaneous coronary intervention in ST-segment elevation myocardial infarction: the HORIZONS-AMI (Harmonizing Outcomes With Revascularization and Stents in Acute Myocardial Infarction) trial. *JACC Cardiovasc Interv* 2012;5:1231-8.
68. Gurbel PA, Tantry US. Combination antithrombotic therapies. *Circulation* 2010;121:569-83.
69. Ferreira JL, Homs S, Berdejo J, et al. Clopidogrel pretreatment in primary percutaneous coronary intervention: prevalence of high on-treatment platelet reactivity and impact on preprocedural patency of the infarct-related artery. *Thromb Haemost* 2013;110:110-7.
70. Wiviott SD, Braunwald E, Angiolillo DJ, et al. Greater clinical benefit of more intensive oral antiplatelet therapy with prasugrel in patients with diabetes mellitus in the trial to assess improvement in therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibition with prasugrel-Thrombolysis in Myocardial Infarction 38. *Circulation* 2008;118:1626-36.
71. James S, Budaj A, Aylward P, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in acute coronary syndromes in relation to renal function: results from the Platelet Inhibition and Patient Outcomes (PLATO) trial. *Circulation* 2010;122:1056-67.
72. James SK, Storey RF, Khurmi NS, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes and a history of stroke or transient ischemic attack. *Circulation* 2012;125:2914-21.
73. Alexopoulos D, Xanthopoulou I, Gkizas V, et al. Randomized assessment of ticagrelor versus prasugrel antiplatelet effects in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Interv* 2012;5:797-804.
74. Parodi G, Valenti R, Bellandi B, et al. Comparison of prasugrel and ticagrelor loading doses in ST-segment elevation myocardial infarction patients: RAPID (Rapid Activity of Platelet Inhibitor Drugs) primary PCI study. *J Am Coll Cardiol* 2013;61:1601-6.

75. Hohl EL, Stimpfl T, Ebner J, et al. Morphine decreases clopidogrel concentrations and effects: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 2014;63:630-5.
76. Mayer K, Bernlochner I, Braun S, et al. Aspirin treatment and outcomes after percutaneous coronary intervention: results of the ISAR-ASPI registry. *J Am Coll Cardiol* 2014;64:863-71.
77. Collet JP, Cuisset T, Range G, et al. Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting. *N Engl J Med* 2012;367:2100-9.
78. Campo G, Fileti L, de Cesare N, et al. Long-term clinical outcome based on aspirin and clopidogrel responsiveness status after elective percutaneous coronary intervention: a 3T/2R (tailoring treatment with tirofiban in patients showing resistance to aspirin and/or resistance to clopidogrel) trial substudy. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:1447-55.
79. Montalescot G, van 't Hof AW, Lapostolle F, et al. Prehospital ticagrelor in ST-segment elevation myocardial infarction. *N Engl J Med* 2014;371:1016-27.
80. Harrington RA, Stone GW, McNulty S, et al. Platelet inhibition with cangrelor in patients undergoing PCI. *N Engl J Med* 2009;361:2318-29.
81. Bhatt DL, Lincoff AM, Gibson CM, et al. Intravenous platelet blockade with cangrelor during PCI. *N Engl J Med* 2009;361:2330-41.
82. Bhatt DL, Stone GW, Mahaffey KW, et al. Effect of platelet inhibition with cangrelor during PCI on ischemic events. *N Engl J Med* 2013;368:1303-13.